



UNIVERSIDADE DE ÉVORA
ESCOLA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Mestrado integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio

Clínica de Espécies Pecuárias: Causas de aborto em bovinos

Realizado por:

Catarina Isabel da Costa Santana

Orientador:

Professora Doutora Elisa Maria Varela Bettencourt

Co-Orientador:

Dr. José Miguel Leal da Costa

*“Este relatório de estágio inclui as críticas e sugestões feitas
pelo Júri”*

2012

Évora

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio

Clínica de Espécies Pecuárias: Causas de aborto em bovinos

Realizado por:

Catarina Isabel da Costa Santana

Orientador:

Professora Doutora Elisa Maria Varela Bettencourt

Co-Orientador:

Dr. José Miguel Leal da Costa

*“Este Relatório de estágio inclui as críticas e sugestões feitas
pelo Júri”*

Agradecimentos

À Professora Doutora Elisa Bettencourt, minha orientadora de estágio, por me ter aceite como sua orientanda e se responsabilizar pelo meu estágio e tudo o que ele acarreta e também pelos conselhos, ensinamentos e pela motivação que me transmitiu ao longo do curso.

Ao Dr. José Miguel Leal da Costa, por ter aceite ser meu coorientador, pelos conhecimentos transmitidos, pelo seu profissionalismo e disponibilidade, o meu muito obrigada!

À Dra. Sónia Germano, pela sua disponibilidade, pelos ensinamentos e pelo espírito crítico e aventureiro que sempre transmitiu.

À Dra. Marta Murta, pela amabilidade e boa disposição que a caracterizam.

À Dra. Elsa Celestino pela constante preocupação em transmitir não só o “como” mas também o “porquê”.

À Dra. Cláudia Candeias, pelo sorriso e boa disposição constantes.

Ao Dr. Nuno Prates, com o qual interagi quase exclusivamente pelo interesse comum na raça Limousine, e que me ajudou a ser (ainda mais) acérrima defensora da mesma.

Ao Pedro Bolas, o primeiro a quem coube a tarefa de me integrar na rotina do departamento de animais de produção do Hospital Veterinário Muralha de Évora, pelos inúmeros tubos feitos “à desgarrada”, pelas gargalhadas, mas sobretudo, pelo profissionalismo e sentido de responsabilidade que sempre transmitiu. Até porque...é com os melhores!

À Sónia Viegas, pela sua paciência com “a gaiata”, pela amabilidade, pelos almoços carregados de boa disposição e por todas as oportunidades práticas que me proporcionou.

Ao Luís Bandeira, pela boa disposição e inúmeros “o que é que estas a fazer?” que sem dúvida marcaram este estágio.

Às colegas de estágio Ana Braz, Cláudia Ferreira e Lorrán Gabardo que tornaram o meu estágio no mínimo muito mais divertido.

A toda a equipa do Hospital por me terem recebido e pela atenção que sempre me disponibilizaram qualquer que fosse a situação.

Aos meus pais, por todo o seu amor, carinho, ajuda, por toda a força e confiança que sempre me transmitiram, sem esquecer o esforço emocional e financeiro que sempre fizeram na minha procura pelo conhecimento.

À minha irmã por, à sua maneira, me fazer continuar.

À tia querida por todo o carinho, apoio, estima e orgulho em mim depositados.

Aos grandes amigos de faculdade Rúben e Katalin, sem os quais tudo seria, certamente, mais difícil.

À recente amiga Estela Rose Araújo, por toda a disponibilidade e paciência, pelas palavras de alento e confiança e por toda a sua amizade.

A Deus, por me dar forças para lutar e ultrapassar os obstáculos da vida.

Resumo

O aborto em bovinos é uma causa significativa de perdas reprodutivas apresentando elevada importância económica. Geralmente provocado por causas que afetam o feto ou a placenta, podem também ocorrer na sequência de reações de *stress* na progenitora. Dado que as suas causas são variadas, divididas em causas infecciosas e não infecciosas, a taxa de sucesso na obtenção de um diagnóstico de um único aborto é baixa mesmo quando efetuadas extensas análises laboratoriais. Na maioria dos casos em que se obtém um diagnóstico a causa é infecciosa, embora as causas não infecciosas estejam provavelmente na origem de muitos dos abortos em que não se obtém diagnóstico. O objetivo deste relatório é, após a análise estatística das atividades realizadas no estágio em clínica de espécies pecuárias, efetuar uma revisão das principais causas de aborto em bovinos e, em seguida, abordar um caso clínico de uma exploração com importantes problemas de aborto.

Palavras-chave: aborto, bovino, clínica, espécies pecuárias

Abstract

Clinical stage in livestock animals: bovine abortion causes

Abortion in cattle is a significant cause of reproductive wastage and is of high economic importance. Abortions are usually caused by factors affecting the fetus or placental membranes but can also follow stress reactions in the dam. As it can result from a broad range of causes, mainly divided in infectious and non-infectious causes, the success rate for diagnosing the cause of single abortions is low even if extensive laboratory examinations are undertaken. In most cases where a diagnosis is reached, the cause is infectious although non-infectious causes probably account for many undiagnosed abortions. This report will, after a statistical analysis of the activities performed in clinical stage of livestock animals, primarily review the main causes of abortion in cattle and secondly present a case report of a herd with an important abortion problem.

Keywords: abortion, bovine, practice, livestock animals

Índice geral

AGRADECIMENTOS.....	I
RESUMO.....	III
ABSTRACT	IV
ÍNDICE GERAL.....	V
ÍNDICE DE GRÁFICOS	VII
ÍNDICE DE TABELAS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
LISTA DE ABREVIATURAS	X
1) INTRODUÇÃO	1
1.1) DESCRIÇÃO DO LOCAL E ATIVIDADES DO ESTÁGIO	1
2) ANÁLISE DAS ATIVIDADES MÉDICO-VETERINÁRIAS DESENVOLVIDAS	3
2.1) MEDICINA PREVENTIVA	4
2.1.1) <i>Ações profiláticas obrigatórias.....</i>	4
2.1.2) <i>Ações profiláticas facultativas</i>	9
2.2) CLÍNICA MÉDICA E CIRÚRGICA EM BOVINOS.....	11
2.2.1) <i>Sistema reprodutor</i>	12
2.2.2) <i>Sistema respiratório</i>	18
2.2.3) <i>Sistema digestivo.....</i>	20
2.2.4) <i>Sistema musculoesquelético.....</i>	21
2.2.5) <i>Pele e anexos</i>	23
2.2.6) <i>Outros casos.....</i>	24
2.2.7) <i>Neonatologia.....</i>	25
2.2.8) <i>Outros procedimentos.....</i>	29
2.3) CLÍNICA MÉDICA EM PEQUENOS RUMINANTES	30
2.4) ASSISTÊNCIA REPRODUTIVA	31
2.4.1) <i>Exame andrológico em bovinos.....</i>	32
2.4.2) <i>Indução e sincronização de ovulação/cio</i>	34
2.4.3) <i>Diagnóstico de gestação</i>	36
3- ABORTO EM BOVINOS	37
3.1-INTRODUÇÃO.....	37
3.1.1) <i>Fisiopatologia do aborto na espécie bovina.....</i>	38
3.2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: CAUSAS DE ABORTO EM BOVINOS.....	39
3.2.1) <i>Causas não infecciosas de aborto.....</i>	39
3.2.2) CAUSAS INFECCIOSAS DE ABORTO	42
4) CASO CLÍNICO:.....	74
ABORTO: ABORDAGEM NUMA EXPLORAÇÃO.....	74
4.1) CARACTERIZAÇÃO DA EXPLORAÇÃO	74
4.2) HISTÓRIA PREGRESSA	75
4.3) ABORDAGEM DIAGNÓSTICA.....	75
4.4) RESULTADOS.....	76
4.5) DISCUSSÃO	78
4.5.1) <i>Abordagens diagnósticas complementares.....</i>	81

4.6) MEDIDAS DE CONTROLO PROPOSTAS FACE AOS AGENTES INFECIOSOS IDENTIFICADOS NA EXPLORAÇÃO	84
4.6.1) <i>Campylobacter fetus venerealis</i>	84
4.6.2) <i>Neospora caninum</i>	85
4.6.3) <i>Chlamydophila abortus</i>	87
5) CONCLUSÃO	88
6) BIBLIOGRAFIA	89
ANEXO 1 – COMPOSIÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DE DUPHAFRAL MULTI® POR ML	A
ANEXO 2 – COMPOSIÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DE OMASIN® POR CADA 200G DE PRODUTO.....	B
ANEXO 3 – COMPOSIÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DE BÊ-COMPLEX® POR ML DE SOLUÇÃO.....	C

Índice de gráficos

Gráfico 1: Animais intervencionados nas várias ações de profilaxia obrigatórias acompanhadas, em número absoluto (n=4720).	5
Gráfico 2: Vacinações e desparasitações realizadas por espécie animal intervencionada, em número absoluto.....	9
Gráfico 3: Distribuição da casuística de clínica médica e cirúrgica em bovinos, em função do sistema envolvido e apresentada em número absoluto (n=166).	11
Gráfico 4: Incidência dos principais agentes patogénicos isolados, consoante a idade do animal, em vitelos de aptidão cárnica com diarreia (adaptado de Gunn <i>et al.</i> , 2009)....	27
Gráfico 5: Procedimentos de assistência reprodutiva acompanhados durante o estágio no HVME, em número absoluto (n=647).	31

Índice de tabelas

Tabela 1: Total de intervenções realizadas em cada espécie animal e em cada área, em número absoluto e frequência relativa (% ; n=11825).	3
Tabela 2: Interpretação das reações cutâneas obtidas com a IDC (adaptado de Decreto-Lei nº 157/98, de 9 de junho).....	6
Tabela 3: Casos clínicos do sistema reprodutor e glândula mamária acompanhados, apresentados em número absoluto e frequência relativa (%; n=63).	12
Tabela 4: Causas de distócia acompanhadas durante o estágio no HVME, em número absoluto e frequência relativa (%; n= 34).	13
Tabela 5: Casos clínicos com sede no sistema digestivo acompanhados, em número absoluto e frequência relativa (%; n=17).	20
Tabela 6: Casos clínicos com sede no sistema musculoesquelético acompanhados, apresentados em número absoluto e frequência relativa (%; n=9).	21
Tabela 7: Casos clínicos da área pele e anexos acompanhados no HVME, em número absoluto e frequência relativa (%; n=8).	23
Tabela 8: Número absoluto e frequência relativa (%; n= 8) de outros casos clínicos acompanhados na espécie bovina.	24
Tabela 9: Casos clínicos da área de neonatologia acompanhados no HVME, em número absoluto e frequência relativa (%; n=29).	26
Tabela 10: Colheita de amostras realizadas durante o estágio no HVME, em número absoluto e frequência relativa (%; n=318).	29
Tabela 11: Casos clínicos de ovinos acompanhados durante o estágio no HVME, em número absoluto e frequência relativa (%; n= 5).	30
Tabela 12: Principais agentes bacterianos implicados no aborto em bovinos (adaptado de Christensen <i>et al.</i> , 2009).	44
Tabela 13: Resultado das análises sorológicas efetuadas aos cinco animais abortados (Pos. – Positivo; Neg. – Negativo).	76
Tabela 14: Resultados das análises efetuadas nas amostras de membranas fetais, enviadas para diagnóstico laboratorial.	77

Índice de figuras

Figura 1: Atuais instalações do Hospital Veterinário Muralha de Évora.	1
Figura 2: Colheita de amostra de sangue num ovino, realizada na veia jugular externa. 9	
Figura 3: Exame vaginal de uma fêmea bovina em parto.	13
Figura 4: Extração do feto com recurso ao extrator obstétrico (Jackson, 2004).	14
Figura 5: Monstro fetal: <i>shistosomus reflexus</i>	15
Figura 6: Mastite clínica ao nível do quarto posterior esquerdo, em vaca de aptidão cárnica.	17
Figura 7: Patogenia da síndrome da vaca caída (adaptado de Huxley, 2006).	22
Figura 8: Fratura ao nível do metacarpo, no membro anterior direito de fêmea bovina.	23
Figura 9: Membro posterior esquerdo de bovino com evidente sobrecrecimento da úngula.	24
Figura 10: Corte corretivo da úngula do membro anterior esquerdo de um bovino.	24
Figura 11: Fatores associados ao desenvolvimento de diarreia neonatal em vitelos, e suas inter-relações (adaptado de Bazeley, 2003).	26
Figura 12: Imagem de necrópsia em ovino, na qual é possível observar uma lesão de linfadenite caseosa nos linfonodos mediastínicos (círculo).	30
Figura 13: Diagnóstico de gestação em ovino, com recurso a ecografia trans-abdominal.	32
Figura 14: Medição do perímetro escrotal em touro.	33
Figura 15: Colheita de sémen em touro (notar a não exteriorização do pénis e eversão da mucosa prepucial).	34
Figura 16: Representação esquemática do protocolo CO-Synch + CIDR® (adaptado de Parish <i>et al.</i> , 2011).	35
Figura 17: Aplicação de CIDR® em novilha.	36
Figura 18: Transmissão de <i>N. caninum</i> na espécie bovina (adaptado de Dubey <i>et al.</i> , 2006).	62
Figura 19: Possíveis consequências reprodutivas da infeção com BVDV, consoante a idade gestacional em que ocorre. MEP: Morte embrionária (adaptado de Grooms, 2006).	69
Figura 20: Feto abortado, com idade gestacional de aproximadamente sete meses.	77

Lista de abreviaturas

AINE – Anti-inflamatório não esteróide

BHV-1 – Herpesvirus bovino tipo-1
(*bovine herpesvirus-1*)

BLV – Vírus da leucemia bovina
(*bovine leukemia virus*)

BRSV – Vírus respiratório sincicial
bovino (*bovine respiratory syncycial virus*)

BVD – Diarreia viral bovina (*bovine viral diarrhea*)

BVDV – Vírus da diarreia viral bovina
(*bovine viral diarrhea virus*)

CE – Corpos elementares

CIDR[®] - Dispositivo de libertação
controlada de fármacos (*Controlled internal drug release*)

CR- Corpos reticulares

DRB – Doença respiratória bovina

ELISA – Imunoabsorção enzimática
(*enzyme-linked immunosorbent assay*)

ETEC – *Escherichia coli*
enterotoxigénica

FC – Fixação do complemento

FR – Frequência relativa

GnRH – Hormona libertadora de
gonadotrofinas (*gonadotropin-releasing hormone*)

HD – Hospedeiros definitivos

HI – Hospedeiros intermediários

HVME – Hospital Veterinário Muralha
de Évora

IBR – Rinotraqueíte infecciosa bovina
(*infectious bovine rhinotracheitis*)

IBRV – Vírus da rinotraqueíte infecciosa
bovina (*infectious bovine rhinotracheitis virus*)

ID – Intestino delgado

IDC – Intradermotuberculinização
comparada

IEP – Intervalo entre partos

IFN- γ – Interferão- γ

IL-2 – Interleucina-2

IV - Intravenosa

OPP – Organização de produtores
pecuários

PCR – reação em cadeia da polimerase
(*polymerase chain reaction*)

PGF_{2 α} – Prostaglandina F_{2 α}

PI – Persistentemente infetado

PI-3 – Parainfluenza vírus tipo-3
(*parainfluenza virus type 3*)

PNSA – Plano Nacional de Saúde
Animal

PPCB – Peripneumonia contagiosa
bovina

RB – Rosa de Bengala

RMF – Retenção de membranas fetais

rtPCR – Reação em cadeia da polimerase, em tempo real (*Real time polymerase chain reaction*)

RT-PCR – Reação em cadeia da polimerase, com transcrição reversa (*Reverse transcription polymerase chain reaction*)

Th-1 – *Thelper-1*

Th-2 – *Thelper-2*

TNF- α – Fator de necrose tumoral- α

TPM – Teste de pré-movimentação

1) Introdução

Este relatório representa o culminar do estágio curricular de domínio fundamental, realizado na área de clínica de espécies pecuárias, no âmbito do Curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora.

O estágio foi realizado na área de clínica de espécies pecuárias, no período de 2 de janeiro a 30 de abril de 2012, no Hospital Veterinário Muralha de Évora (HVME) (figura 1) em Évora, sob orientação da Professora Doutora Elisa Bettencourt e coorientação do Dr. José Miguel Leal da Costa.

A primeira parte deste trabalho reflete a casuística resultante do acompanhamento e participação nas várias atividades desenvolvidas no HVME. Na sequência das atividades médico-veterinárias acompanhadas durante o período supracitado, foi realizada uma revisão de literatura subordinada ao tema “aborto em bovinos”, com a apresentação e discussão de um caso clínico acompanhado.



Figura 1: Atuais instalações do Hospital Veterinário Muralha de Évora.

1.1) Descrição do local e atividades do estágio

Fundado em 1997 sob a designação de Clínica Veterinária Muralha de Évora, o HVME situa-se na rua Marechal Costa Gomes, nº 9 em Évora, sendo o resultado da associação de três médicos veterinários (Dr. José Miguel Leal da Costa, Dr. Nuno Prates e Dr. Pedro Duñoes), com o objetivo de fornecer um melhor e mais profissional serviço de atendimento médico-veterinário na região do Alentejo. Conta atualmente com os serviços de doze médicos veterinários com áreas de atuação bem definidas (animais de

companhia, animais de produção e equinos), visando a prestação de serviços cada vez mais eficientes e de melhor qualidade.

As novas instalações do HVME, inauguradas em 2008, contam com equipamentos de vanguarda especialmente dedicadas aos animais de companhia, mas com possibilidade de hospitalizar vitelos, pequenos ruminantes e poldros para tratamento intensivo. Além das instalações hospitalares, o HVME dispõe ainda de assistência médico-veterinária em regime de ambulatório aos animais de produção e equinos, numa parceria entre o HVME e a Equimuralha.

A equipa do departamento de animais de produção do HVME é constituída por cinco médicos veterinários (Dra. Elsa Celestino, Dr. José Miguel Leal da Costa, Dra. Marta Murta, Dr. Nuno Prates e Dra. Sónia Germano), e três auxiliares (Luis Bandeira, Pedro Bolas e Sónia Viegas), e dispõe de seis unidades móveis totalmente equipadas para serviço ambulatório, 24h por dia, durante todo o ano.

Durante o estágio, tive a oportunidade de acompanhar a equipa de animais de produção do HVME nas diferentes atividades que desempenham, as quais serão descritas em seguida e que se referem a quatro áreas principais: medicina preventiva, clínica médica e cirúrgica de bovinos, clínica médica de pequenos ruminantes e assistência reprodutiva. Através do acompanhamento das várias atividades, foi possível integrar e aplicar conhecimentos quer teóricos quer práticos, no sentido de melhor compreender e resolver situações com as quais o médico veterinário se depara diariamente. Foi também possível identificar vários aspetos que contribuem para uma melhor comunicação com os produtores/responsáveis pelos animais, de forma a obter e transmitir informações claras e concisas.

Durante todo o período de estágio ficou notória a importância do conceito de medicina da produção no auxílio à evolução produtiva e económica das explorações. Esta, coloca o médico veterinário como elo de ligação entre o manejo sanitário e o manejo geral da exploração e baseia-se na aplicação de protocolos que visam a prevenção de doenças, ao invés da medicina de urgência, na qual o tratamento individual dos animais é muitas vezes tardio e insuficiente para evitar perdas económicas. Neste âmbito, com o objetivo não só de informar como também de formar os produtores e ainda, de tornar mais rentáveis as suas explorações o HVME organizou, pelo quarto ano consecutivo, as Jornadas do Hospital Veterinário Muralha de Évora, desta feita subordinadas ao tema

“Produção Pecuária em tempo de crise – novas estratégias”, que decorreram nos dias 2 e 3 de março de 2012 e das quais tive oportunidade de participar.

2) Análise das atividades médico-veterinárias desenvolvidas

Este capítulo está dividido em quatro grandes partes e focará as ações na área da medicina preventiva, clínica médica e cirúrgica de bovinos, clínica médica de ovinos e por fim, o serviço de assistência reprodutiva.

Os dados serão apresentados em tabelas e/ou gráficos, sob a forma de frequência absoluta (número de animais intervencionados) e/ou frequência relativa (FR), em percentagem. A frequência relativa permite entender o peso que cada espécie, área clínica ou afeção tem sobre o número total de animais intervencionados, sendo calculada de acordo com a fórmula seguinte:

$$\% \text{ Frequência relativa (FR)} = \frac{\text{Número de animais intervencionados}^*}{\text{Número total de animais intervencionados}} \times 100$$

*por espécie, área clínica, afeção

Durante o estágio foram atendidos inúmeros animais diariamente tornando-se impossível acompanhar todos os médicos veterinários e portanto, todos os casos. Desta forma, a casuística a seguir mencionada refere-se apenas às atividades assistidas pela autora, não representando a casuística real do departamento de animais de produção do HVME.

A tabela 1 sumariza o total de intervenções médico-veterinárias por espécie animal e por área (medicina preventiva, clínica e assistência reprodutiva).

Tabela 1: Total de intervenções realizadas em cada espécie animal e em cada área, em número absoluto e frequência relativa (% ; n=11825).

Espécie	Ações de profilaxia	Clínica	Assistência reprodutiva	Total	FR
Bovina	5154	164	647	5965	50,5%
Ovina	4359	8	1342	5709	48,3%
Caprina	88	1	0	89	0,8%
Suína	60	0	0	60	0,5%
Total	9661	173	1989	11823	100,0%
FR	81,7%	1,5%	16,8%	100,0%	

A partir desta tabela é possível verificar que foram realizadas 11823 intervenções nas diversas áreas e espécies. Deste valor não é possível afirmar quantos animais foram intervencionados já que num mesmo efetivo podem ter sido realizadas ações de profilaxia e clínica e/ou assistência reprodutiva em diferentes ocasiões, pelo que o mesmo animal pode estar contabilizado várias vezes.

É então possível verificar que as ações de profilaxia representaram 81,7% das intervenções, a clínica 1,5 % e a assistência reprodutiva cerca de 16,8%. Por espécie animal, observa-se que a espécie bovina foi alvo de 50,5% das intervenções, seguida da espécie ovina com 48,3%. As espécies caprina e suína representaram apenas 0,8 e 0,5% das intervenções, respetivamente.

2.1) Medicina preventiva

Na área de medicina preventiva incluem-se as ações de profilaxia obrigatória previstas no Plano Nacional de Saúde Animal (PNSA) e ainda as ações profiláticas de natureza facultativa (vacinações e desparasitações) acompanhadas durante o estágio. Seguidamente serão descritas cada uma delas em separado e organizadas por espécie intervencionada.

2.1.1) Ações profiláticas obrigatórias

2.1.1.1) Bovinos

As intervenções de profilaxia obrigatória realizadas durante o estágio no HVME inserem-se no PNSA onde estão incluídos os programas de erradicação e vigilância epidemiológica, bem como as ações de controlo para a prevenção de algumas das doenças dos animais. No PNSA está prevista a realização de ações de carácter profilático e sanitário, assim como análises laboratoriais e abate sanitário de animais, sendo os seus custos suportados pelo Estado Português e pelos criadores. Estas ações são executadas mediante a celebração de acordos de cooperação entre os serviços veterinários oficiais e as organizações de produtores pecuários (OPP) (Portaria 178/2007 de 9 de fevereiro). O departamento de animais de produção do HVME, no papel de médico veterinário executor, trabalha com sete OPP sendo elas Évora-Montemor, Beja, Estremoz, Ponte de Sôr, Mourão, Coruche e Monforte.

As ações de profilaxia obrigatória acompanhadas foram testes de pré-movimentação (TPM) (Decreto-Lei n.º 244/2000, de 27 de setembro e Decreto-Lei n.º 272/2000, de 8

de novembro), realizados aos bovinos com mais de 12 meses de idade nos 30 dias anteriores à sua introdução num efetivo de estatuto sanitário igual ou superior ao efetivo de origem (em 162 animais), reinspeções do efetivo à tuberculose (590 animais) e saneamento anual (3968 animais) (gráfico 1), num total de 4720 animais intervencionados.

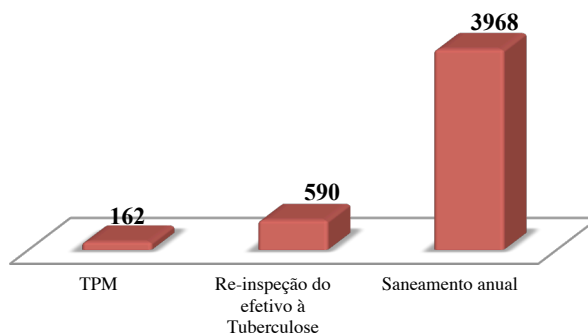


Gráfico 1: Animais intervencionados nas várias ações de profilaxia obrigatórias acompanhadas, em número absoluto (n=4720).

As intervenções sanitárias implicam a realização de testes de diagnóstico que no caso da espécie bovina visam o rastreio da tuberculose (através da prova da intradermotuberculinização comparada (IDC)), brucelose e leucose enzoótica bovina (através da realização de provas sorológicas). As provas sorológicas são efetuadas após colheita de amostra de sangue, realizada na veia/artéria coccígea mediana.

2.1.1.1.1) Tuberculose bovina

A tuberculose bovina é uma doença infetocontagiosa provocada pela infeção com a bactéria *Mycobacterium bovis* ou *Mycobacterium tuberculosis*. Caracteriza-se pelo desenvolvimento progressivo de lesões granulomatosas (tubérculos) em qualquer órgão do animal, podendo afetar um grande número de espécies incluindo Homem, representando por isso uma zoonose (Cobner, 2003).

A prova de diagnóstico oficial, também designada como prova oficial de tuberculina é a IDC. Esta exige uma inoculação de tuberculina bovina e uma inoculação de tuberculina aviária efetuadas simultaneamente na pele do pescoço, obrigatoriamente por via intradérmica, na dose mínima de 2 000 UCT quer de tuberculina bovina como de

tuberculina aviária, sendo o volume de cada dose de 0,1 ml. O ponto de injeção da tuberculina aviária deve situar-se cerca de 10 cm ventral à linha superior do pescoço e o ponto de injeção da tuberculina bovina deve situar-se 12,5cm ventral ao primeiro, numa linha aproximadamente paralela à linha da espádua, ou em lados diferentes do pescoço (anexo B do Decreto-Lei n.º 157/98, de 9 de junho).

A IDC compreende as seguintes etapas (anexo B do Decreto-Lei n.º 157/98, de 9 de junho):

- tricotomia nos locais de injeção;
- medição da espessura da pele com um cutímetro;
- inoculação da tuberculina intradermicamente, sendo que uma injeção bem dada provocará, à palpação, uma ligeira tumefação com as dimensões de uma ervilha em cada ponto de injeção;
- medição da espessura da prega da pele, em cada ponto de injeção, 72h depois da injeção.

A IDC baseia-se numa reação de hipersensibilidade de tipo IV ou retardada, e resulta da interação entre o antígeno administrado, as células apresentadoras de antígenos e os linfócitos T (Tizard, 2004a). A interpretação da prova baseia-se na existência ou não de sinais clínicos tais como edema difuso ou extenso, exsudado, necrose, dor ou reação inflamatória dos canais linfáticos ou dos linfonodos da região, e na relação entre o aumento ou aumentos registados na espessura da prega de pele nos locais de injeção das tuberculinas aviária e bovina, registados 72h após a inoculação, de acordo com a tabela 2.

Tabela 2: Interpretação das reações cutâneas obtidas com a IDC (adaptado de Decreto-Lei nº 157/98, de 9 de junho)

Resultado	Diferença entre reação da tuberculina bovina em relação à aviária
Negativo	Sem sinais clínicos e reação à tuberculina bovina negativa ou positiva ou duvidosa mas igual ou inferior a reação à tuberculina aviária positiva ou duvidosa.
Duvidoso	Sem sinais clínicos e reação à tuberculina bovina positiva ou duvidosa e superior à reação à tuberculina aviária em um a quatro milímetros.
Positivo	Presença de sinais clínicos e/ou reação à tuberculina bovina superior à reação à tuberculina aviária em quatro ou mais milímetros.

Quanto à tuberculose bovina, os efetivos são classificados de acordo com o estipulado pelo Decreto-Lei n.º 272/2000 de 8 de novembro em: T3 – oficialmente indemne, T2 – não oficialmente indemne, T2.1 – não oficialmente indemne sendo a classificação utilizada para cálculo da incidência da doença, devendo ser utilizada sempre que se confirme oficialmente a presença de animais suspeitos e nos quais tenha sido isolado *Mycobacterium bovis* ou *M. tuberculosis* na exploração.

2.1.1.1.2) Brucelose

A brucelose é uma zoonose provocada por bactérias do género *Brucella* cujas principais manifestações clínicas são aborto ou nascimento de vitelos fracos nas fêmeas, e orquite e epididimite nos machos (Radostitis *et al.*, 2007a).

As normas técnicas de execução do programa de erradicação da brucelose bem como os procedimentos relativos à classificação sanitária de efetivos e áreas e à consequente epidemiovigilância da doença, constam do Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de setembro. O seu rastreio implica a pesquisa de anticorpos anti-*Brucella* pelo teste de Rosa de Bengala (RB) e pelo teste de fixação do complemento (FC), sendo o primeiro utilizado como teste de rastreio e a FC utilizada como teste de confirmação e como prova complementar do RB. Nos efetivos bovinos realiza-se o RB a todos os animais da exploração com idade superior a 12 meses, segundo o programa anual, sendo os soros positivos testados por FC, com abate dos seropositivos neste último teste (FC). Estas provas devem ser realizadas com intervalos superiores a três meses e inferiores a 12 meses, consoante o estatuto sanitário da exploração. As classificações sanitárias atualmente existentes são: B4 – efetivo oficialmente indemne; B3 – efetivo indemne; B2 – efetivo não indemne; B2.1 – considerado não indemne, sendo esta a classificação usada para o cálculo da incidência a nível dos relatórios técnicos.

2.1.1.1.3) Leucose enzoótica bovina

A leucose enzoótica bovina é provocada pelo vírus da leucemia bovina (BLV), um oncovírus da família Retroviridae. Não representa uma zoonose e caracteriza-se pelo desenvolvimento de tumores linfoides multicêntricos que podem afetar todos os

sistemas corporais, com especial ênfase para o trato digestivo, nervoso, reprodutivo e cardíaco (Radostitis *et al.*, 2007b).

As medidas de combate à leucose enzoótica bovina constam do Decreto-Lei nº 114/99 de 14 de abril e implicam o controlo serológico, através da pesquisa de anticorpos anti-BLV pelo método da imunoabsorção enzimática (ELISA), a todos os bovinos com mais de 12 ou 24 meses de idade de acordo com a classificação sanitária da exploração (L1 – efetivo de situação desconhecida (atualmente já não existem efetivos com esta classificação); L2 – efetivo infetado; L3 – efetivo não indemne e, L4 – efetivo bovino oficialmente indemne).

2.1.1.2) Pequenos ruminantes

Nos pequenos ruminantes o programa nacional de erradicação de brucelose tem por base o Decreto-Lei 244/2000 de 27 de setembro e prevê a realização de controlo serológico a todos os ovinos com idade superior a seis meses, ou 18 meses quando vacinados com REV-1. No entanto, nos efetivos indemnes (B3) ou oficialmente indemnes (B4) o controlo pode ser feito por amostragem da fração representativa da população de ovinos e caprinos se a área epidemiológica onde o rebanho se localiza tiver 99,8% dos rebanhos indemnes ou oficialmente indemnes.

As provas sorológicas utilizadas são as mesmas que as já descritas para a brucelose nos bovinos, assim como a classificação sanitária dos efetivos.

Durante o estágio curricular no HVME foram realizadas 1788 colheitas de amostras de sangue em ovinos e 38 em caprinos, sendo a colheita efetuada na veia jugular externa (figura 2).



Figura 2: Colheita de amostra de sangue num ovino, realizada na veia jugular externa.

2.1.2) Ações profiláticas facultativas

As ações de profilaxia facultativa realizadas durante o estágio no HVME consistiram de vacinações e desparasitações, como consta no gráfico 2.

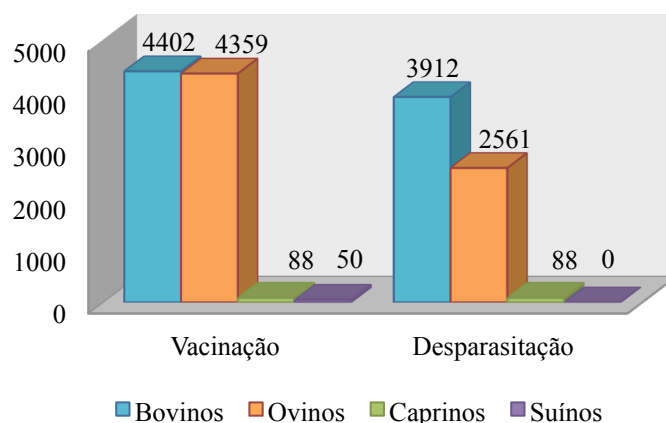


Gráfico 2: Vacinações e desparasitações realizadas por espécie animal intervencionada, em número absoluto.

A análise do gráfico permite verificar que a espécie em que se realizaram mais intervenções foi a bovina (4402 vacinações e 3912 desparasitações), seguida da espécie ovina (4359 vacinações e 2561 desparasitações), espécie caprina (88 vacinações e 88 desparasitações) e por fim a espécie suína com apenas 50 vacinações. Com exceção da espécie suína, a maioria das intervenções foi realizada aquando da realização do saneamento anual.

A vacinação representa o método de controlo de doenças infecciosas mais eficiente e com melhor relação custo-benefício quer em animais quer em humanos. A imunização

ativa, ao contrário do que acontece na imunização passiva, envolve a administração de antígeno ao animal para que este desenvolva uma resposta imunológica. A sua principal desvantagem é que, como qualquer resposta imune adquirida, não confere proteção imediata. Contudo, uma vez estabelecida, a imunidade é de longa duração e pode ser reestimulada (Tizard, 2004b).

A vacina ideal deve fornecer imunidade forte e prolongada quer ao animal imunizado como ao feto, não apresentar efeitos adversos, ser barata, estável e aplicável a vacinações em massa e estimular uma resposta imune distinguível da desencadeada pela infecção natural, a fim de possibilitar a vacinação e erradicação simultâneas. As vacinas podem ser classificadas em vacinas vivas/atenuadas ou em vacinas mortas/inativadas. As primeiras devem sofrer um processo de redução da sua virulência designado atenuação, sendo o nível deste crítico para o sucesso da vacinação. As vacinas mortas/inativadas devem permanecer antigenicamente semelhantes aos agentes vivos, pelo que o processo de inativação não deve provocar alterações extensas na estrutura antigénica (Tizard, 2004b).

Na espécie ovina e caprina, as vacinações foram realizadas com uma vacina multivalente inativada contra as toxinas produzidas por *Clostridium perfringens* (tipo A, B, C e D), *Clostridium novyi*, *Clostridium septicum*, *Clostridium tetani*, *Clostridium sordelli* e *Clostridium chauvoei* (Multivac 9[®]).

Já nos bovinos, para a vacinação contra enterotoxémia utilizou-se não só Multivac 9[®], como também uma outra vacina que confere proteção também contra *Clostridium haemolyticum* (Bravoxin 10[®]). Além destas, foram também realizadas vacinações contra o vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBRV), vírus da diarreia viral bovina (BVDV), parainfluenza vírus tipo-3 (PI-3) e vírus respiratório sincicial bovino (BRSV) através do uso de uma vacina tetravalente, utilizada na prevenção de doença respiratória bovina (Rispoval 4[®]), e ainda contra IBRV, BVDV, PI-3, BRSV, *Leptospira interrogans* serovariedade Canicola, *Leptospira interrogans* e *borgpetersenii* serovariedade Hardjo, *Leptospira kirschnerii* serovariedade Grippotyphosa, *Leptospira interrogans* serovariedade Pomona e *Leptospira interrogans* serovariedade Icterohaemorrhagiae, mediante a utilização de Triangle 9[®].

Os suínos intervencionados foram submetidos a vacinação contra *Erysipelothrix rhusiopathie* (agente etiológico do mal rubro) com Ruvax[®].

O controlo parasitário efetuado baseou-se na utilização de anti-helmínticos, cuja finalidade é limitar a eliminação de ovos e larvas nas fezes e, consequentemente, reduzir o número de estágios infetantes no meio onde vivem os hospedeiros (De Almeida & Ayres, 2006). Em bovinos, o agente anti-helmíntico utilizado foi a ivermectina (Noromectin[®]) em aplicação subcutânea ou *pour-on*. A ivermectina, um derivado macrocíclico da lactona, além de apresentar atividade anti-helmíntica é também um potente ectoparasiticida sendo por isso classificado como endectocida. Nos pequenos ruminantes o antiparasitário mais frequentemente utilizado foi uma combinação de oxfendazol (pertencente à classe dos benzimidazóis) e closantel (salicilanilida), administrado por via oral (Duotech[®]).

2.2) Clínica médica e cirúrgica em bovinos

A casuística de clínica médica e cirúrgica consistiu maioritariamente em atividades de clínica médica, sendo a clínica cirúrgica resumida à realização de cesarianas. Na clínica médica o principal sistema afetado foi, como é possível verificar através do gráfico 3, o sistema reprodutor, seguido do sistema respiratório, sistema digestivo e sistema músculo-esquelético e, por fim, a pele e anexos com igual número de casos às doenças classificadas como “Outros”. Devido às particularidades inerentes aos vitelos neonatos, a autora classificou as doenças acompanhadas nos mesmos em separado daquelas acompanhadas nos bovinos adultos, num capítulo designado de Neonatologia, abordado em 2.2.7.

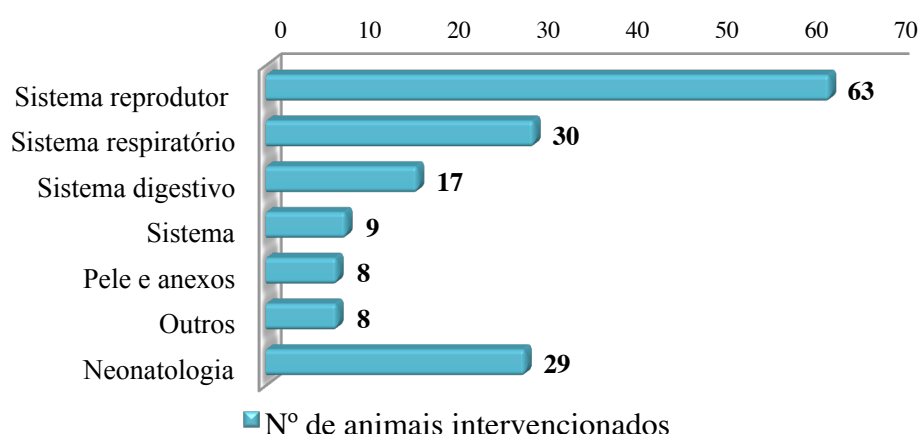


Gráfico 3: Distribuição da casuística de clínica médica e cirúrgica em bovinos, em função do sistema envolvido e apresentada em número absoluto (n=164).

Durante o acompanhamento dos casos clínicos, foram ainda realizadas outras intervenções tais como procedimentos de eutanásia, necrópsia e recolha de amostras, posteriormente abordados em 2.2.8.

2.2.1) Sistema reprodutor

O sistema reprodutor foi o sistema corporal que registou maior número de casos clínicos durante o período de estágio (38%, n=164). Como é possível verificar na tabela 3, a distócia foi a ocorrência mais frequente (34 casos), seguida da mastite e retenção de membranas fetais (RMF) (sete casos) e da metrite (seis casos). Além destes, registaram-se ainda três abortos/partos prematuros, três casos de prolapso uterino, dois de orquite e um de prolapso vaginal.

Tabela 3: Casos clínicos do sistema reprodutor e glândula mamária acompanhados, apresentados em número absoluto e frequência relativa (%; n=63).

Afeção	Nº animais acometidos	FR
Aborto/parto prematuro	3	4,8%
Distócia	34	54,0%
Mastite	7	11,1%
Metrite puerperal	6	9,5%
Orquite	2	3,2%
Prolapso uterino	3	4,8%
Prolapso vaginal	1	1,6%
Retenção de membranas fetais	7	11,1%
Total	63	100,0%

A distócia ocorre quando a primeira ou a segunda fase do parto se prolonga e é necessária assistência ao mesmo. É uma das principais causas de perdas económicas devido à mortalidade do feto e/ou da progenitora, ao maior risco de infertilidade posterior à distócia, ao custo de tratamento e ainda à diminuição da capacidade reprodutiva da fêmea (Jackson, 2004).

A abordagem a um caso de distócia inicia-se com a anamnese, seguida da limpeza da área perineal e vulva com recurso a soluções antissépticas e, exame vaginal (figura 3) com o objetivo de determinar se o feto se encontra no canal de parto (nos casos em que este não é visível do exterior), a sua apresentação, posição e postura e presença ou

ausência de sinais vitais do mesmo. Além disso, pretende-se ainda avaliar o grau de dilatação da cérvix e existência de alguma estrutura a obstruí-la, a presença de membranas fetais e se possível, verificar a integridade das suas conexões ao útero e ainda, avaliar a possível existência de lesões, fraturas pélvicas ou luxações sacro-iliacas que possam interferir com o parto (Jackson, 2004).



Figura 3: Exame vaginal de uma fêmea bovina em parto.

Durante o estágio no HVME, dos 34 casos de distócia 16 tiveram origem fetal e 18 origem materna, sendo que em apenas 14 dos 34 partos assistidos foi possível realizar a extração do vitelo com vida. As causas de distócia foram variadas (tabela 4) e em sete dos casos foi necessário recorrer a cesariana para extração do feto.

Tabela 4: Causas de distócia acompanhadas durante o estágio no HVME, em número absoluto e frequência relativa (%; n= 34).

Causa	Nº casos	FR(%)
Desproporção feto-maternal	10	29,4
Inércia uterina secundária	9	26,5
Torção uterina	2	5,9
Dilatação cervical inadequada	1	2,9
Defeitos de apresentação, posição e postura do feto:	10	29,4
1. Apresentação posterior	2	5,9
2. Apresentação posterior e flexão bilateral dos curvilhões	1	2,9
3. Apresentação posterior e posição ventral	1	2,9

4. Lateralização da cabeça	2	5,9
5. Flexão uni/bilateral de carpo	4	11,8
Monstro fetal	1	2,9
Gemelaridade (apresentação simultânea)	1	2,9
Total	34	100,0

As principais causas de distócia foram a desproporção fetopélvica e os defeitos de apresentação, posição e postura do feto, seguidos da inércia uterina secundária. A desproporção fetopélvica ocorre quando existe uma incompatibilidade entre o desenvolvimento fetal e o canal obstétrico, ocorrendo uma desproporção entre eles. Nestes casos, a fêmea ou não consegue ou apresenta grandes dificuldades em completar a segunda fase do parto (Jackson, 2004). Nos casos de desproporção fetopélvica acompanhados, observava-se a presença dos membros anteriores do feto na vulva da vaca e, por vezes também o espelho e narinas do feto. A extração do feto realizou-se por tração exercida com o auxílio do extrator obstétrico (figura 4), após a colocação de cordas obstétricas ao nível dos metacarpos do feto.



Figura 4: Extração do feto com recurso ao extrator obstétrico (Jackson, 2004).

No entanto, em três dos casos a desproporção fetopélvica apresentada não permitiu a extração do vitelo sem a realização de cesariana, na tentativa de retirar o vitelo com vida, o que ocorreu em dois dos casos. No que toca aos defeitos de apresentação,

posição e postura do feto, os defeitos posturais foram os mais frequentemente encontrados, sendo que para sua resolução foi necessário corrigir esse defeito, efetuando depois tração com recurso ao extrator obstétrico. No entanto, num dos casos de desvio lateral do pescoço isso não foi possível, tendo-se recorrido à cesariana.

Nos casos de inércia uterina secundária procedeu-se à extração do feto com recurso ao extrator obstétrico. Estes casos ocorreram geralmente em novilhas em que estava também presente algum grau de desproporção fetopélvica.

Além destas causas ocorreram ainda dois casos de distócia devido a torção uterina (diagnosticada via palpação transvaginal e resolvida com recurso a cesariana), um de dilatação cervical incompleta (resolvida mediante a administração de oxitocina, tendo o parto ocorrido cerca de duas horas depois), um caso de monstruosidade fetal (*shistosomus reflexus*) (figura 5) resolvido mediante cesariana e ainda um caso de gestação gemelar com apresentação simultânea dos dois fetos, um em apresentação anterior e o outro em posterior.



Figura 5: Monstro fetal: *shistosomus reflexus*.

A RMF é definida como a falha na expulsão das membranas fetais nas doze horas seguintes ao nascimento do vitelo (Eiler & Fecteau, 2007). A collagenase secretada pelas membranas fetais durante o parto provoca o enfraquecimento das conexões entre o útero e as membranas fetais. A ação mecânica das contrações uterinas e a compressão dos placentomas iniciam esta separação. Após o parto, a contração dos cotilédones à medida que o seu fluxo sanguíneo diminui, possibilita o seu destacamento das carúnculas. Assim, qualquer alteração mecânica e/ou inflamatória pode resultar na formação de edema na junção entre os cotilédones e as carúnculas, impedindo o seu destacamento e consequente expulsão, originando a RMF (Guard, 1999).

Nos casos de RMF observados, os animais apresentavam parte das membranas fetais no exterior (RMF parcial). Nas vacas que apresentavam cérvix aberta foi realizada tração manual de forma ligeira e cuidada, tentando soltar os cotilédones das carúnculas. Quando tal não foi possível, aplicou-se prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) na dose de 25 mg/animal de forma a estimular a contratibilidade uterina e, desta forma, ocorrer a expulsão das membranas fetais. Nestes casos foi também realizada antibioterapia profilaticamente com recurso a oxitetraciclina (20 mg/kg), a fim de evitar a instauração de metrite.

A metrite é uma doença reprodutiva comum do pós-parto, provocada por um desequilíbrio entre os fatores de agressão e os fatores de defesa do animal o que irá comprometer o curso fisiológico da involução uterina (Chapwania, 2008). A metrite puerperal ocorre geralmente nos primeiros dez dias após o parto, podendo ocorrer até 21 dias depois do mesmo. O animal apresenta corrimento vaginal fétido, de coloração vermelho-acastanhado e sinais clínicos de doença sistémica como febre, depressão, anorexia ou inapetência, diminuição da produção leiteira e em casos mais severos, desidratação e aumento da frequência cardíaca, ocorrendo muitas vezes associada a RMF, distócia, gestações gemelares e partos de nados-mortos (Sheldon *et al.*, 2006; Risco *et al.*, 2007).

O tratamento destes animais consistiu na administração de antibioterapia por via intrauterina (oxitetraciclina) e parenteral (oxitetraciclina, associação de penicilina G procaína, penicilina G benzatina e dihidroestreptomicina ou ceftiofur), administração de $PGF_{2\alpha}$ e de anti-inflamatório não esteróide (AINE) (carprofeno). Recorreu-se ainda à utilização de suplementos dietéticos (Omasin[®] (composição no anexo 2)) e vitamínicos (vitamina B1) a fim de promover e restabelecer a função digestiva e a fluidoterapia sempre que o animal se encontrava desidratado.

As mastites representaram 11,1% das afeções acompanhadas. O termo mastite define a inflamação do parênquima da glândula mamária, independentemente da causa, que se caracteriza pelo conjunto de alterações químicas e físicas do leite e patológicas do tecido glandular, podendo classificar-se em mastite clínica (figura 6) ou subclínica. Pode ter várias causas (microrganismos, trauma, agentes químicos irritantes), sendo que na espécie bovina está geralmente associada a agentes infecciosos (McDougall, 2002). O tratamento destas consistiu na aplicação de antibiótico por via intramamária

(cefoperazona) e por via parenteral nos casos de mastite severa (geralmente associação de penicilina G procaína, penicilina G benzatina e dihidroestreptomicina, na dose de 20000 UI/kg e 20 mg/kg respetivamente). Nestes, procedeu-se também ao estabelecimento de terapia anti-inflamatória, geralmente com carprofeno (1,4 mg/kg).



Figura 6: Mastite clínica ao nível do quarto posterior esquerdo, em vaca de aptidão cárnica.

O prolapso uterino é uma complicação da terceira fase do parto (expulsão das membranas fetais), que ocorre frequentemente imediatamente ou num período de poucas horas após o mesmo. Considera-se que resulta de uma interação entre a atonia do miométrio uterino, o relaxamento do ligamento largo e dos tecidos perineais e perivaginais, sendo predisposto por fatores como hipocalcémia, RMF e distócia (Plenderleith, 1986). O seu tratamento consistiu na redução do útero prolapsado após a sua lavagem com uma solução de água e clorhexidina diluída, e lubrificação com gel obstétrico. Antes de repor o útero tinha-se o cuidado de avaliar a possível existência simultânea de prolapso da bexiga, o que não ocorreu em nenhum dos casos. Após a reintrodução do útero foram colocados alfinetes obstétricos a fim de evitar recidivas. O tratamento consistiu também no estabelecimento de antibioterapia (associação de penicilina G procaína, penicilina G benzatina e dihidroestreptomicina, na dose de 20000 UI/kg e 20 mg/kg respetivamente) bem como terapia anti-inflamatória (flunixinina meglumina na dose de 2,2 mg/kg) e oxitocina (30 UI/animal).

O prolapso vaginal ocorreu numa vaca gestante, e o seu tratamento consistiu na aplicação de alfinetes obstétricos a fim de prevenir a sua recidiva.

A orquite foi a única afeção ocorrida no sexo masculino. Geralmente considera-se que tem origem infecciosa, sendo que os agentes atingem o órgão após disseminação hematogénica a partir de outros locais de infeção (Hopkins, 2007). Num dos casos o animal apresentava um abscesso ao nível do escroto, com diminuição de mobilidade

testicular, edema e aumento da temperatura local, procedendo-se ao seu tratamento com amoxicilina e ácido clavulânico na dose de 20 mg/kg e carprofeno na dose de 1,4 mg/kg. No outro caso, o animal apresentava também diminuição da edema escrotal, diminuição da mobilidade testicular e alteração da sua consistência, tendo-se realizado o mesmo tratamento que no animal atrás mencionado.

2.2.2) Sistema respiratório

Apesar do uso e disponibilidade de vacinas e novos agentes antimicrobianos, assim como de um maior entendimento da patogenia da doença respiratória bovina (DRB), esta, variando de subclínica a fatal, continua a representar uma das principais causas de morbidade, mortalidade e perdas económicas das explorações bovinas. Quando os bovinos são submetidos a situações de *stress*, como o desmame, transporte, e mistura de animais de diferentes idades e pesos, a transmissão de vários agentes infecciosos e a proliferação de microrganismos endógenos, mas potencialmente patogénicos, ocorre frequentemente resultando em dano para o trato respiratório com consequente desenvolvimento de doença. A interação *stress*/agentes infecciosos/sistema imunitário resulta geralmente no desenvolvimento de severas broncopneumonias bacterianas. (Panciera & Confer, 2010).

O papel dos vírus em precipitar o desenvolvimento de DRB severa e broncopneumonia bacteriana é já conhecido. O IBRV, PI-3 e BRSV são reconhecidos como importantes agentes patogénicos respiratórios e o BVDV um importante parceiro no desenvolvimento de DRB. Estes agentes podem causar doença respiratória aguda, mas a sua principal ação é o estabelecimento de um ambiente favorável à colonização e replicação de bactérias patogénicas, o que ocorre através de dois mecanismos principais. O primeiro consiste na alteração das superfícies das membranas mucosas de maneira que a adesão bacteriana às células infetadas por vírus é favorecida. O segundo mecanismo consiste na modificação da resposta imune inata e adaptativa, pela alteração da função dos macrófagos alveolares, supressão da proliferação linfocitária e indução da apoptose, além de modificação da libertação de citocinas e outros mediadores inflamatórios (Panciera & Confer, 2010).

Os agentes bacterianos mais comumente associados a DRB são *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Mycoplasma bovis* e *Bibersteinia trehalosi*. Estes são comensais da nasofaringe que, após *stress* ou infecção viral, podem proliferar e ser inalados até ao pulmão onde provocam destruição tecidual, desencadeando e intensificando a resposta inflamatória (Panciera & Confer, 2010).

Durante o estágio no HVME foram acompanhados 30 animais com sinais clínicos de DRB. Destes, 22 pertenciam a um grupo de animais recentemente transportado, proveniente de leilão. Neste grupo de animais, dadas as implicações financeiras inerentes a uma intervenção a nível individual, optou-se pela terapia antimicrobiana por via oral com oxitetraciclina. Os animais com sinais clínicos mais acentuados foram também sujeitos a terapia anti-inflamatória com a administração de carprofeno (Rimadyl®) na dose de 1,4 mg/kg. Além deste, um outro grupo de três animais também recentemente transportados e provenientes de leilão, foi submetido a tratamento para DRB, recorrendo-se ao uso de tilmicosina (Micotil®) na dose de 10 mg/kg e carprofeno (Rimadyl®) na dose de 1,4 mg/kg.

Foram ainda acompanhados cinco casos clínicos de DRB, distribuídos pelo período de estágio, todos eles pertencentes à mesma exploração de engorda intensiva de animais. Neste tipo de exploração, os animais são muitas vezes de diversas origens, raças, pesos e estados imunitários, apresentando maior risco de contrair DRB quer pela exposição aos agentes patogénicos quer pela maior suscetibilidade à doença. O principal objetivo nestas explorações é minimizar a incidência e o custo associado à morbilidade e mortalidade através da aplicação de programas profiláticos. Estes visam minimizar a exposição aos agentes patogénicos, estimular a imunidade dos animais da exploração e diminuir os fatores de risco que potenciam a disseminação da DRB (Edwards, 2010).

Nestes casos, o tratamento consistia numa antibioterapia para tratamento/prevenção das infeções bacterianas secundárias, utilizando-se um dos seguintes antibióticos: florfenicol (Nuflor®) (20 mg/kg) ou macrólidos como a tilmicosina (Micotil®) na dose de 10 mg/kg. Para além da antibioterapia, administrou-se também um AINE, carprofeno (Rimadyl®). Adicionalmente ao tratamento, foram também feitas recomendações ao produtor quanto ao cumprimento do programa vacinal, maior controlo dos animais importados e ao manejo geral da exploração.

2.2.3) Sistema digestivo

Durante o período de estágio foram acompanhados 17 casos clínicos com sede no sistema digestivo, sendo que a afeção mais frequente foi a enterite/diarreia (9 casos clínicos), seguida da indigestão simples (tabela 5).

Tabela 5: Casos clínicos com sede no sistema digestivo acompanhados, em número absoluto e frequência relativa (%; n=17).

Afeção	Nº animais acometidos	FR (%)
Acidose ruminal crónica	1	5,9
Enterite/Diarreia	9	52,9
Indigestão simples	4	23,5
Intussusceção de ID ¹	1	5,9
Suspeita de reticuloperitonite traumática	2	11,8
Total	17	100,0

*ID (intestino delgado)

A diarreia em bovinos adultos é um sinal clínico comum a várias doenças. O animal geralmente apresenta apenas diarreia e, no exame clínico, pode verificar-se hipomotilidade ruminal mas sem outros sinais clínicos. O tratamento dos casos de enterite/diarreia consistiu na administração de fluidoterapia oral e/ou intravenosa (IV) em animais com grau de desidratação superior a 8%, antibioterapia, com recurso à associação de penicilina G procaína, penicilina G benzatina e dihidroestreptomicina (Shotapen[®] LA), nas doses de 20000 UI/kg e 20 mg/kg respetivamente, AINE (carprofeno na dose de 1,4 mg/kg), complexo multivitamínico (Duphafal Multi[®] (composição no anexo 1)) e um suplemento dietético (Omasin[®] (composição no anexo 2)) para prevenção de acidose e tratamento preventivo de cetose secundária.

A indigestão é o termo geral aplicado ao grupo de afeções que se caracteriza por disfunção reticulo-ruminal. As indigestões podem classificar-se em primárias ou secundárias sendo que as primárias incluem as afeções nas quais o reticulo-rúmen está diretamente afetado sendo responsável pelos sinais clínicos, enquanto as secundárias representam sequelas de afeções sistémicas ou com sede noutro sistema corporal (Garry & McConnel, 2009).

Os quatro casos de indigestão acompanhados foram considerados indigestões primárias simples, que representam a sequela mais frequente de alterações abruptas na alimentação. Estas alterações introduzem substratos nutricionais à microflora ruminal para os quais os microrganismos não estão metabolicamente adaptados, ou estão adaptados mas em menores quantidades ou ainda, que contêm ou produzem substâncias inibitórias à fermentação (Garry & McConnel, 2009). O seu tratamento consistiu na administração de fluidoterapia oral, sais minerais (sulfato de magnésio) e vitaminas (vitamina B) e tratamento/prevenção de cetose secundária ao processo.

Além destes, foram também acompanhados dois casos suspeitos de reticuloperitonite traumática, um caso de acidose ruminal crónica e um caso de intussuscepção de intestino delgado, confirmado via laparotomia exploratória.

2.2.4) Sistema musculoesquelético

Os 5,4% de casos de doença do sistema musculoesquelético corresponderam, na sua maioria a casos clínicos de vacas caídas (55,6%, n=9), como é possível verificar na tabela 6.

Tabela 6: Casos clínicos com sede no sistema musculoesquelético acompanhados, apresentados em número absoluto e frequência relativa (%; n=9).

Afeção	Nº de animais acometidos	FR(%)
Claudicação	3	33,3
Fratura	1	11,1
Vaca caída	5	55,6
Total	9	100,0

Define-se como síndrome da vaca caída o animal em decúbito geralmente esternal, com incapacidade em levantar-se e sem causa física aparente. Independente da causa primária da permanência do animal em decúbito, após cerca de seis horas, a lesão nervosa e muscular, no membro sobre o qual o animal se encontra, pode tornar-se a razão da incapacidade do animal para manter-se em estação (figura 7). Assim, mesmo que a causa inicial seja resolvida, o animal permanecerá em decúbito (Huxley, 2006).

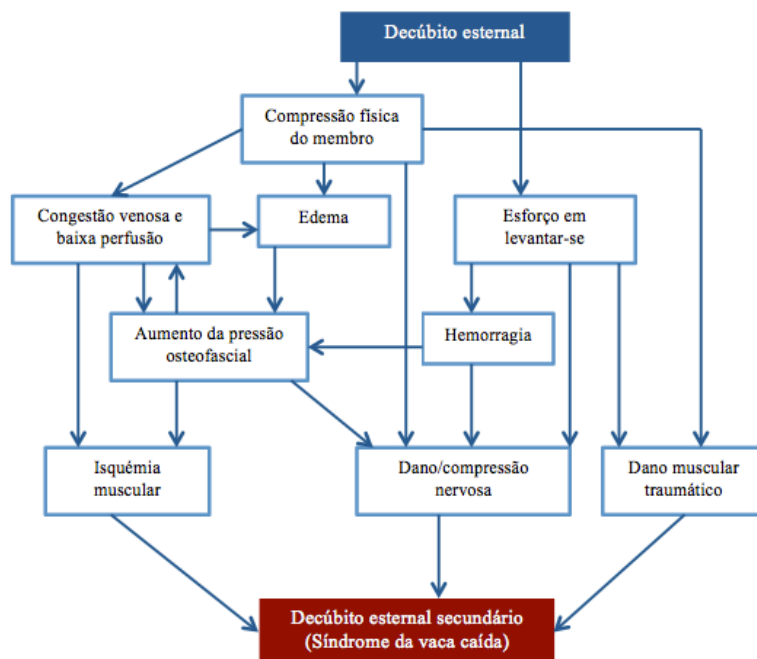


Figura 7: Patogenia da síndrome da vaca caída (adaptado de Huxley, 2006).

Os animais acometidos apresentavam parto há menos de 24h, sem assistência. Nestes casos o tratamento consiste primariamente em tentar colocar o animal em estação, com o objetivo de minimizar as lesões musculares e nervosas provocadas por decúbito prolongado. Quando tal não foi possível, o proprietário foi instruído em fornecer água e alimento de boa qualidade ao animal, assim como cama confortável.

Em todos os casos foi administrado um anti-inflamatório não esteróide, carprofeno (Rimadyl®) na dose de 1,4 mg/kg, ou esteróide, normalmente uma associação de fenilpropionato de dexametasona e fosfato sódico de dexametasona (Dexafort®) na dose de 0,15 mg/kg, e vitamina B1.

Os casos de claudicação ocorreram após trauma, resultante de confronto com outros animais. O seu tratamento consistiu na administração de anti-inflamatório não esteróide no caso de uma fêmea gestante, e esteróide nos restantes casos (dois touros). Além da terapia anti-inflamatória foi também administrada uma solução multivitamínica (Bê-complex® (composição no anexo 3)).

Quanto à fratura, ocorreu ao nível do metacarpo, no membro anterior direito de uma fêmea adulta (figura 8). Neste caso procedeu-se à eutanásia do animal pelo mau prognóstico que apresentava quanto à recuperação do animal.



Figura 8: Fratura ao nível do metacarpo, no membro anterior direito de fêmea bovina.

2.2.5) Pele e anexos

Relativamente aos oito casos de afeções da pele e anexos (tabela 7), dois referem-se a feridas traumáticas com localização na parede costal e no prepúcio, dois são abscessos subcutâneos na tábua do pescoço e um referente a necrobacilose interdigital. Foi ainda realizado o corte corretivo de úngulas a três animais.

Tabela 7: Casos clínicos da área pele e anexos acompanhados no HVME, em número absoluto e frequência relativa (%; n=8).

	Nº de animais acometidos	FR (%)
Abcesso subcutâneo	2	25,0
Corte corretivo de úngulas	3	37,5
Feridas	2	25,0
Necrobacilose interdigital	1	12,5
Total	8	100,0

Os tratamentos realizados consistiram na lavagem das feridas com soluções antissépticas e, no caso dos abscessos, drenagem e lavagem com solução de H₂O₂. Em ambas as afeções foi iniciada antibioterapia com uma associação de penicilina G procaína, penicilina G benzatina e dihidroestreptomicina (Shotapen[®] LA) na dose de 20000 UI/kg e 20 mg/kg respetivamente, terapia anti-inflamatória com carprofeno (Rimadyl[®]) e administração tópica de uma suspensão de clortetraciclina (Animedazon[®]).

A necrobacilose interdigital ocorreu num animal em regime de engorda. Esta é uma doença infecciosa que se caracteriza por inflamação e necrose dos tecidos moles do

espaço interdigital e, em casos mais severos, dos tecidos mais profundos. Resulta do sinergismo existente entre várias bactérias anaeróbias, nomeadamente, *Fusobacterium necrophorum*, *Dichelobacter nodosus*, *Prevotella melaninogenicus* e *Porphyromonas leni*. Além dos agentes infecciosos, o piso húmido, irregular e em más condições higiénicas também propiciam o desenvolvimento da afeção (Janke, 2009). O tratamento consistiu de antibioterapia com ceftiofur (Naxcel[®]) na dose de 2 mg/kg, bem como terapia anti-inflamatória com carprofeno (Rimadyl[®]) na dose de 1,4 mg/kg.

Foi ainda realizado corte corretivo de úngulas a três animais, devido ao sobrecrecimento dos mesmos (figura 9). O principal objetivo do corte de úngulas é restabelecer a correta forma e superfície de apoio da extremidade distal (figura 10).



Figura 9: Membro posterior esquerdo de bovino com evidente sobrecrecimento da úngula.



Figura 10: Corte corretivo da úngula do membro anterior esquerdo de um bovino.

2.2.6) Outros casos

Além dos casos já mencionados, foram ainda acompanhados seis casos de queratoconjuntivite infecciosa e dois de intoxicação por ingestão de folhas de sobreiro/azinheira, como mostra a tabela 8.

Tabela 8: Número absoluto e frequência relativa (%) de outros casos clínicos acompanhados na espécie bovina.

Afeção	Nº de animais acometidos	FR (%)
Intoxicação por folha de sobreiro/azinheira	2	25,0
Queratoconjuntivite infecciosa bovina	6	75,0
Total	8	100,%

A queratoconjuntivite infecciosa, cujo agente etiológico é *Moraxella bovis*, representa a doença ocular mais importante em bovinos. Pode apresentar evolução aguda, subaguda ou crônica, afetando apenas um ou ambos os olhos. Embora não represente uma doença fatal, o seu impacto económico é importante e decorrente da perda de visão, a qual é responsável pela perda de peso, redução da produção de leite, dificuldades de manejo e custos com o tratamento (Conceição & Turnes, 2003). O tratamento dos seis animais consistiu na aplicação de antibioterapia subconjuntival, com recurso a oxitetraciclina.

A intoxicação por ingestão excessiva de folhas de sobreiro/azinheira ocorreu em dois animais na mesma exploração. Num ano particularmente seco em que a escassez alimentar é agravada, os produtores utilizam a limpeza de azinheiras e sobreiros nas regiões de montado para auxiliar a suprir as necessidades alimentares dos animais. A sobreingestão das folhas destas árvores provoca disfunção renal e gastrointestinal, com sinais clínicos semelhantes aos da intoxicação por aminoglicosídeos. Uma vez que não existe um antídoto específico, o tratamento é limitado e baseia-se na administração de carvão ativado com o objetivo de evitar a absorção dos agentes tóxicos (taninos), e no estabelecimento de terapia de suporte com fluidoterapia e administração de complexos vitamínicos. Foi também recomendado ao produtor fornecer aos animais alimento apetecível e de boa qualidade assim como impedir a continuação da ingestão das folhas de azinheira e sobreiro (Kahn, 2011).

2.2.7) Neonatologia

A preocupação com a saúde do vitelo deve ser uma prioridade quer em explorações de bovinos de aptidão cárnica como de aptidão leiteira. Apesar da sua importância, estudos revelam que a mortalidade pré-desmame ronda os 4 a 5% em explorações de bovinos de carne. Além da distócia, as principais causas de mortalidade neonatal são a diarreia, a doença respiratória e a septicémia neonatal (Smith, 2009a).

Durante o estágio no HVME, foram acompanhados um total de 29 casos clínicos em bovinos neonatos, com maior incidência para a diarreia neonatal (13 casos), doença respiratória (7 casos) e septicémia (4 casos), como mostra a tabela 9.

Tabela 9: Casos clínicos da área de neonatologia acompanhados no HVME, em número absoluto e frequência relativa (%; n=29).

Afeção	Nº de casos	FR (%)
Diarreia neonatal	13	44,8
Septicemia	4	13,8
Deformidade flexural da articulação metacarpofalângica, bilateral	1	3,4
Cegueira congênita bilateral	1	3,4
Theileriose	2	6,9
Choque anafilático	1	3,4
Doença respiratória	7	24,1
Total	29	100,0

A diarreia neonatal representa a principal causa de mortalidade em vitelos quer de aptidão cárnica como leiteira, o que se reflete negativamente nos índices produtivos das explorações, particularmente naquelas de aptidão cárnica em que o vitelo é o seu único produto (Smith, 2009b). Além da mortalidade associada, esta afeção é ainda responsável pela ocorrência de atrasos no crescimento do(s) vitelo(s) acometido(s) e pelos custos com o seu tratamento, representando assim uma fonte de importantes perdas económicas. A diarreia neonatal é uma doença multifatorial que pode ser provocada por diversos agentes infecciosos (vírus, bactérias, protozoários) em associação ou não, ou por fatores de ordem ambiental, como o manejo e a dieta, envolvendo geralmente uma interação entre os vários fatores tal como representado na figura 11.

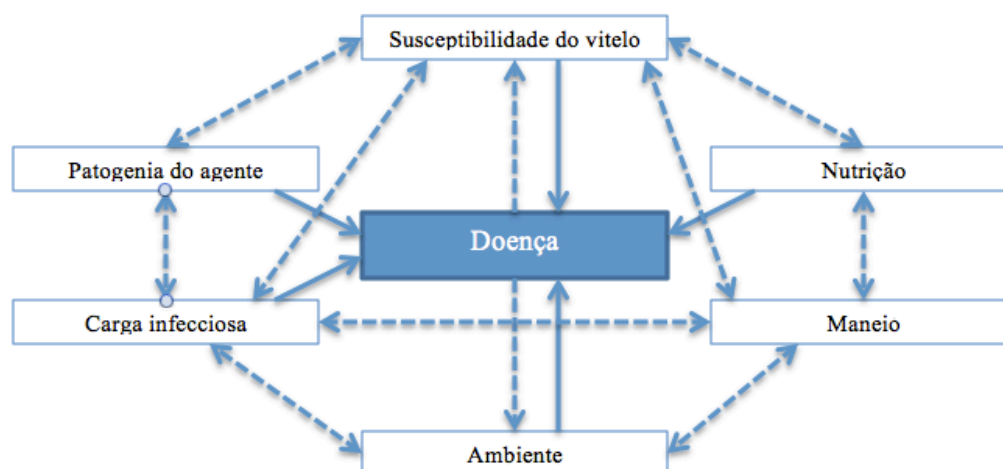


Figura 11: Fatores associados ao desenvolvimento de diarreia neonatal em vitelos, e suas inter-relações (adaptado de Bazeley, 2003).

Atualmente, os agentes infecciosos com maior importância são *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC), *Cryptosporidium parvum*, rotavírus e coronavírus (Foster & Smith, 2009). Embora em algumas situações a idade do animal sugira o envolvimento de determinado(s) agentes (gráfico 4), de maneira geral não é possível realizar um diagnóstico etiológico com base apenas nos sinais clínicos apresentados pelo animal (diarreia aquosa profusa, acidose e desidratação progressivas), pelo que a doença é muitas vezes designada por diarreia aguda indiferenciada de vitelos neonatos (Foster & Smith, 2009).

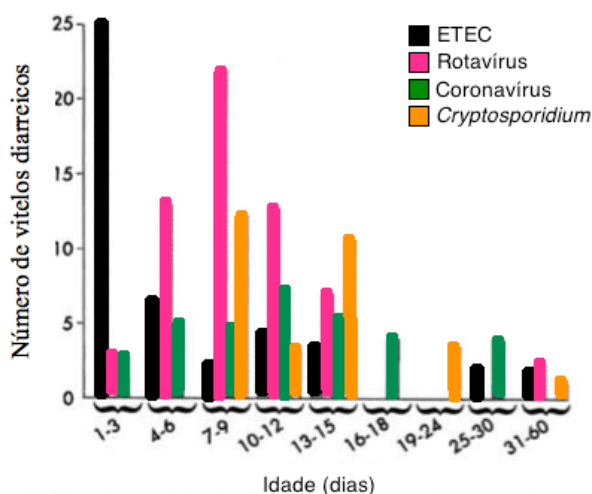


Gráfico 4: Incidência dos principais agentes patogénicos isolados, consoante a idade do animal, em vitelos de aptidão cárnica com diarreia (adaptado de Gunn *et al.*, 2009).

Durante o estágio no HVME, foram acompanhados vários casos de diarreia neonatal. O tratamento compreendia fluidoterapia oral e/ou IV consoante o estado de desidratação do animal, antibioterapia e AINE após a correção da desidratação do animal. Os principais objetivos da fluidoterapia são a reposição do volume circulante, bem como do equilíbrio ácido-base e eletrolítico, sendo que a fluidoterapia oral permite ainda fornecer suporte nutricional (Smith, 2009b). A escolha da antibioterapia a utilizar variou consoante a idade do animal, as características da diarreia e a disponibilidade do produtor em efetuar o tratamento, variando geralmente entre a gentamicina (Gentay[®]) na dose de 5 mg/kg, enrofloxacina (Enrotril Max[®]) na dose de 4 mg/kg e a associação de sulfadiazina e trimetoprim (Tribrissen[®]) na dose de 30 mg/kg. O anti-inflamatório utilizado nestes casos era o carprofeno (Rimadyl[®]), na dose de 1,4 mg/kg. Além disso

era também administrado um suplemento alimentar comercial para auxiliar na rehidratação e correção da acidose.

A doença respiratória além de ser responsável por 21,3% de mortalidade pré-desmame, provoca consequências a longo prazo nos animais que sobrevivem, como baixa taxa de crescimento, baixa *performance* reprodutiva, diminuição da produção leiteira e longevidade (Poulsen & McGuirk, 2009).

Os agentes virais mais frequentemente implicados como causa de doença respiratória nas primeiras semanas de vida são o IBRV e o BRSV, sendo que PI-3 e BVDV são também capazes de infectar o sistema respiratório e predispor os vitelos à ocorrência de pneumonia bacteriana. Esta, pode ocorrer em consequência de septicemia, pneumonia por aspiração, contaminação massiva do colostro ou de contaminação ambiental. O tratamento inicia-se geralmente com um ou mais antibióticos de largo espectro e terapia de suporte (anti-inflamatório, fluidoterapia e suporte nutricional) consoante a severidade dos sinais clínicos (Poulsen & McGuirk, 2009).

No HVME, o tratamento destes pacientes consistia no estabelecimento de antibioterapia (geralmente com florfenicol (Nuflor[®]) ou tilmicosina (Micotil[®])) e terapia anti-inflamatória com recurso a carprofeno (Rimadyl[®]). Aos animais que apresentavam grau de desidratação superior a 8%, foi também instituída fluidoterapia IV com Lactato de Ringer.

A septicemia refere-se à doença sistêmica associada à presença e, por vezes, persistência dos microrganismos patogénicos ou das suas toxinas na corrente sanguínea (Fecteau *et al.*, 2009). A bactéria *Escherichia coli* é o agente etiológico mais frequente de septicemia neonatal, tendo já sido isolados *Salmonella*, *Campylobacter*, *Klebsiella* e vários *Staphylococcus*. As bactérias que provocam septicemia infectam o hospedeiro a partir de uma porta de entrada, sobrevivem à resposta imunitária específica e não específica do hospedeiro e por fim, disseminam-se pelo corpo do animal provocando lesões (Fecteau *et al.*, 2009). O tratamento tem como objetivos o controlo da infeção, modular a resposta inflamatória e fornecer suporte ao animal durante a fase crítica. Os agentes antimicrobianos devem ter espectro de ação contra agentes gram-positivos e gram-negativos. No HVME o tratamento consistia na administração de agentes antimicrobianos (ceftiofur (Naxcel[®]) ou a enrofloxacin (Enrotril Max[®])), juntamente com AINE's (carprofeno) após rehidratação do animal, sempre que necessária, e

tratamento de suporte que inclui melhoria das condições ambientais e correção de problemas secundários (hipovolêmia, hipoglicemia, acidose metabólica e desequilíbrios eletrolíticos).

Além dos casos mais frequentes desta área clínica, foi também acompanhado um caso de um vitelo com uma deformidade flexural bilateral (articulações metacarpofalângicas), um caso de cegueira congênita bilateral, dois casos de theileriose (confirmada mediante esfregaço sanguíneo) e um caso de choque anafilático pós-vacinal.

2.2.8) Outros procedimentos

Durante o acompanhamento realizado às explorações foi por diversas vezes necessário realizar colheita de amostras para diagnóstico laboratorial. Estas consistiram de 309 amostras sanguíneas, na sua grande maioria para pesquisa de animais persistentemente infectados por BVDV, quatro amostras de membranas fetais e três colheitas de amostras de tecidos fetais (pulmão, fígado, baço, rim e conteúdo abomasal) para pesquisa de agentes abortivos e ainda, duas colheitas de fezes para realização de análises coprológicas (tabela 10).

Tabela 10: Colheita de amostras realizadas durante o estágio no HVME, em número absoluto e frequência relativa (%; n=318).

Amostra	Nº colheitas	FR(%)
Sangue	309	97,2
Membranas fetais	4	1,3
Aborto	3	0,9
Fezes	2	0,6
Total	318	100

Além da colheita de amostras, foram ainda realizadas 11 necrópsias e oito procedimentos de eutanásia.

2.3) Clínica médica em pequenos ruminantes

Durante o estágio no HVME foram também acompanhados casos clínicos na espécie ovina, embora com muito menos frequência do que a registada na espécie bovina. Estes, como é possível verificar na tabela 11, foram dois casos de distócia (ambos de gestação gemelar com apresentação anterior e posterior simultânea dos fetos), um caso de toxémia de gestação (fêmea de aptidão leiteira em final de gestação de trigêmeos), um caso de urolitíase (borrego do sexo masculino em fase de engorda) e um caso de septicémia num borrego neonato.

Tabela 11: Casos clínicos de ovinos acompanhados durante o estágio no HVME, em número absoluto e frequência relativa (%; n= 5).

Afeção	Nº de casos	FR(%)
Distócia	2	40
Septicémia	1	20
Toxémia de gestação	1	20
Urolitíase	1	20
Total	5	100

Além dos casos clínicos foram ainda realizadas três necrópsias em ovinos (figura 12).



Figura 12: Imagem de necrópsia em ovino, na qual é possível observar uma lesão de linfadenite caseosa nos linfonodos mediastínicos (círculo).

Na espécie caprina registou-se apenas a avulsão do membro anterior esquerdo após ataque de canídeo, tendo-se procedido à eutanásia do animal.

2.4) Assistência reprodutiva

Dado que a receita das explorações de bovinos de aptidão cárnica provém quase exclusivamente da venda de vitelos quer ao desmame como após recria/engorda, é necessário que estas explorações alcancem o máximo de eficiência reprodutiva, no sentido de maximizar a rentabilidade da exploração. Ao contrário do que acontece nas explorações de aptidão leiteira em que o médico veterinário desde há muito representa um elemento fundamental no manejo reprodutivo da exploração, nas explorações de bovinos de carne poucos são os produtores que apostam ativamente em intervenções médico-veterinárias do âmbito do manejo reprodutivo (Caldow *et al.*, 2005). Na região do Alentejo é possível apontar as condições de manejo das explorações, maioritariamente em regime extensivo, sem épocas reprodutivas definidas e muitas das quais sem instalações apropriadas à realização de intervenções médico-veterinárias regulares, como fatores que tornam os produtores relutantes em apostar em programas de controlo reprodutivo.

O HVME, através do Núcleo de Reprodução e Fertilidade, presta serviços de assistência reprodutiva às explorações que o solicitam, com o intuito de maximizar o potencial reprodutivo das mesmas. Este serviço inclui a análise dos registos das explorações ou criação dos mesmos, realização de exames andrológicos, sincronização de cio, inseminação artificial, avaliação do aparelho reprodutivo da fêmea e diagnóstico de gestação, recorrendo a ecografia sempre que necessário.

Durante o estágio, foi acompanhada a realização de 22 exames andrológicos, 89 sincronizações de estros e 536 diagnósticos de gestação, num total de 647 bovinos intervencionados, como mostra o gráfico 5.

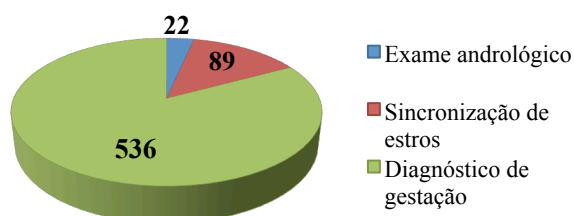


Gráfico 5: Procedimentos de assistência reprodutiva acompanhados durante o estágio no HVME, em número absoluto (n=647).

Além da espécie bovina é também prestado serviço de assistência reprodutiva em ovinos, tendo a autora acompanhado 1342 diagnósticos de gestação nesta espécie (Figura 13), na qual o diagnóstico de gestação foi realizado com recurso a ecografia trans-abdominal, 60 dias após retirar os machos do grupo.



Figura 13: Diagnóstico de gestação em ovino, com recurso a ecografia trans-abdominal.

2.4.1) Exame andrológico em bovinos

Os principais objetivos da realização de exame andrológico são o auxílio na tomada de decisão no que respeita à seleção e manejo de touros, minimizar o risco do proprietário manter um touro subfértil ou infértil na sua exploração e maximizar o rácio touro/vacas. A fertilidade e potencial genético dos touros afetam significativamente a eficiência produtiva de explorações, sendo muito mais importantes para a *performance* da exploração do que as mesmas características individuais duma fêmea (McGowan, 2004).

Os touros devem ser examinados antes do início da época reprodutiva, antes da venda do animal como reprodutor ou quando se suspeita de um problema de subfertilidade/infertilidade (McGowan, 2004).

O exame andrológico compreende a história pregressa da exploração e do animal, o exame físico do estado geral, o exame do sistema reprodutor, a colheita de sémen, espermograma e por fim a emissão de um relatório.

2.4.1.1) História pregressa da exploração e do animal

O produtor deve ser questionado acerca da ocorrência de doença ou alterações significativas da condição corporal do animal nos dois a quatro meses anteriores à

realização do exame andrológico. Inclui ainda informações acerca da *performance* reprodutiva do animal em épocas anteriores, assim como o seu estatuto sanitário e quaisquer vacinações efetuadas.

2.4.1.2) Exame físico do estado geral

O exame físico deve permitir ao clínico determinar se o animal se encontra em bom estado geral, em condição corporal adequada e sem anomalias que afetem significativamente a função reprodutiva.

2.4.1.3) Exame do sistema reprodutor

O exame do sistema reprodutor inclui a avaliação do trato genital externo e interno. Os testículos devem ser manipulados no escroto a fim de permitir a avaliação da sua simetria, tamanho, consistência e mobilidade testicular e a sua termorregulação. O epidídimo deve ser palpado quanto à sua presença, tamanho e consistência. Realiza-se a medição do perímetro escrotal (figura 14) que se relaciona diretamente com o peso testicular, estando este diretamente relacionado com a produção espermática. O pénis é avaliado por palpação, desde a base do escroto até ao orifício prepucial (McGowan, 2004).

Quanto à genitália interna (porção pélvica do pénis, corpo da próstata, ampolas e vesículas seminais) são avaliadas mediante palpação transretal quanto à sua presença, tamanho, consistência e simetria (McGowan, 2004).



Figura 14: Medição do perímetro escrotal em touro.

2.4.1.4) Colheita de sémen

O método de colheita do sémen utilizado no HVME é a eletroejaculação através do Electrojac V, o qual se baseia na estimulação elétrica da zona responsável pela ereção e ejaculação. A colheita (figura 15) inicia-se após a saída das secreções das glândulas

bulbo-uretrais, recolhendo-se apenas a fração rica em espermatozoides (McGowan, 2004).



Figura 15: Colheita de sémen em touro (notar a não exteriorização do pénis e eversão da mucosa prepucial, na ausência de qualquer afeção associada).

2.4.1.5) Espermograma

Após a colheita do sémen são avaliadas as suas características macro e microscópicas. A avaliação macroscópica compreende o volume, aspeto (viscosidade, densidade e cor) e odor (McGowan 2004).

As características microscópicas avaliadas no exame de rotina realizado pela equipa do HVME são a mobilidade massal, a percentagem de espermatozoides móveis e morfologia espermática.

2.4.1.6) Emissão de relatório técnico

Após realização do exame andrológico completo, os resultados são analisados e interpretados e os reprodutores classificados em “aptos” (aprovados para a utilização em reprodução), “classificação adiada”, (devendo aguardar nova avaliação após um período de espera), ou “inaptos” (sendo desaconselhada a sua utilização como reprodutores) (Spitzer *et al.*, 1998).

2.4.2) Indução e sincronização de ovulação/cio

A sincronização éstrica é uma tecnologia reprodutiva que permite a realização de inseminação artificial em tempo fixo, podendo também ser usada em programas de transferência embrionária, na sincronização entre a doadora e a recetora. A melhoria das técnicas de sincronização de cio foi acompanhada do aumento do número de fêmeas inseminadas (Penny, 1998).

No HVME o principal objetivo para a utilização desta tecnologia reprodutiva é a realização de inseminação artificial em tempo fixo, estando disponíveis vários protocolos de sincronização éstrica para esse efeito. Os protocolos diferem em quais hormonas utilizadas, a via e número de administrações e também no número de vezes que os animais necessitam de intervenção. O seu custo varia consoante os fármacos utilizados e a mão de obra implicada. O protocolo mais frequentemente utilizado foi o CO-Synch 7 dias em associação com o dispositivo de libertação controlada de fármacos (CIDR[®]) (figura 16). Este protocolo preconiza três intervenções aos animais: no dia zero aplicação do CIDR[®] (figura 17) + administração de hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH) (Receptal[®]); no dia 7 remoção de CIDR[®] e administração de PGF_{2α} (Veteglan[®]) e por fim, inseminação artificial + administração de GnRH (Receptal[®]) 60-66h após a aplicação de PGF_{2α} e remoção de CIDR[®].

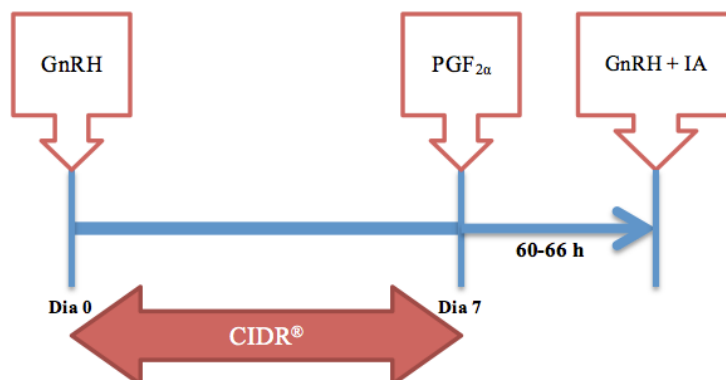


Figura 16: Representação esquemática do protocolo CO-Synch + CIDR[®] (adaptado de Parish *et al.*, 2011).



Figura 17: Aplicação de CIDR® em novilha.

2.4.3) Diagnóstico de gestação

Vários são os métodos disponíveis para a realização de diagnóstico de gestação em bovinos. Destes, o mais simples, eficiente e prático continua a ser o clínico, mediante palpação transretal. Quando realizada por um operador experiente, é possível obter um diagnóstico fiável a partir do dia 35 a 39 de gestação (Moraes *et al.*, 2007). A realização do diagnóstico de gestação permite detetar precocemente as vacas gestantes assim como as vacas problema, estabelecer lotes de manejo alimentar e sanitário, minimizar a utilização dos touros e ainda estabelecer uma previsão de parto, possibilitando um melhor acompanhamento do mesmo (Moraes *et al.*, 2007).

Durante o estágio no HVME os diagnósticos de gestação foram realizados mediante palpação transretal, acompanhada de ecografia nos casos passíveis de dúvida em relação ao diagnóstico. Nos animais com diagnóstico de gestação negativo, o aparelho reprodutivo foi avaliado quanto à presença de doenças ováricas e/ou doenças uterinas recorrendo, sempre que necessário, à ecografia transretal para confirmação e diferenciação entre as várias afeções. Em alguns casos detetou-se a presença de quistos foliculares e/ou luteínicos os quais foram tratados com a administração de GnRH e PGF_{2α} respetivamente.

3- Aborto em bovinos

3.1-Introdução

Na produção bovina, uma boa *performance* reprodutiva é essencial para um manejo eficiente e para aumentar a eficácia produtiva (Ball & Peters, 2004). O insucesso em conseguir levar uma gestação a termo com sobrevivência do neonato, provoca importantes perdas financeiras quer pela perda de material genético quer pela diminuição da receita obtida através da venda dos vitelos, quer ainda, pelo aumento dos custos com a compra de fêmeas de substituição. Estas perdas traduzem-se em efeitos económicos negativos profundos a nível da exploração (Caldow & Gray, 2004) uma vez que a economia de uma exploração de bovinos de carne está totalmente dependente do seu produto: o vitelo. Assim, a aposta na melhoria da eficiência reprodutiva (definida como a capacidade de uma vaca ficar gestante e produzir descendência viável (Ball & Peters, 2004)) pode marcar a diferença entre uma exploração rendível e uma não rendível. No entanto, se nos bovinos de aptidão leiteira a consciência da importância do controlo reprodutivo está já amplamente disseminada, na produção de carne só agora os produtores se começam a consciencializar da sua importância sendo relativamente recente a implementação de programas profiláticos não obrigatórios que visam aumentar a produtividade numérica da exploração.

Muitos são os fatores implicados na diminuição da eficiência reprodutiva de uma exploração, podendo ser classificados em duas grandes classes: as causas infecciosas, que incluem bactérias, vírus, protozoários e fungos, e as causas não infecciosas nas quais se incluem fatores genéticos, nutricionais, ambientais e práticas de manejo. (Torremorrell, 2007). Estes fatores têm impacto na reprodução através da redução da taxa de ovulação, redução da fertilização, aumento da mortalidade embrionária e fetal assim como da mortalidade até ao desmame (Givens, 2006).

O aborto em bovinos é um fator limitante no desenvolvimento da bovinocultura a nível mundial. O seu impacto económico irá depender quer do valor do feto perdido, como dos custos indiretos (honorário do médico veterinário, custos associados ao procedimento diagnóstico, aumento do intervalo entre partos, substituição das fêmeas caso se justifique o seu abate) a ele associados. Este pode ocorrer de forma esporádica ou em forma de surto e ter origem infecciosa ou não infecciosa, pelo que estabelecer um

diagnóstico etiológico definitivo é, muitas vezes, difícil (Dubey, 1999; Rivera, 2001; Corbellini *et al.*, 2006).

Na espécie bovina, aborto pode definir-se como a perda do produto da concepção a partir do período fetal (aproximadamente 42 dias de gestação), até aos 260 dias (Rivera, 2001), como resultado de falhas nos mecanismos que controlam a gestação (Torremorrell, 2007). A perda deste produto antes dos 42 dias pós-concepção toma a designação de morte embrionária (Rivera, 2001), enquanto a expulsão de um feto com idade superior a cerca de 260 dias de gestação (momento a partir do qual o feto bovino seria viável fora do útero materno), toma a designação de parto prematuro (Ball & Peters, 2004).

A maioria das explorações bovinas têm uma taxa de aborto de cerca de 1-2%, pelo que, a ocorrência de um aborto não é, geralmente, causa de alarme. No entanto, quando a incidência de abortos numa exploração excede os 3% ou quando ocorrem vários abortos num curto período de tempo, devem ser realizadas mais investigações a fim de obter um diagnóstico e aplicar as devidas medidas de controlo (Cabell, 2007).

3.1.1) Fisiopatologia do aborto na espécie bovina

A gestação é definida como o período compreendido entre a fertilização e o parto sendo que nos bovinos tem duração de aproximadamente 280 dias, podendo variar entre 270 e 292 dias (Stevenson, 2007). A perda da mesma, pode ser dividida em mortalidade embrionária (até aos 42 dias de gestação) e mortalidade fetal (dos 42 aos 260 dias de gestação), como já referido (Rivera, 2001).

A morte embrionária pode ser provocada por fatores maternos, fatores embrionários ou pela interação entre ambos, já que o estabelecimento e manutenção da gestação é um processo altamente complexo que envolve o embrião, o útero e a progenitora, não existindo um único fator que possa ser manipulado e que melhore consistentemente a taxa de sobrevivência do embrião (Lamb, 1999).

O aborto, é um evento que ocorre no período fetal sem no entanto implicar a morte do feto como fator determinante para a sua ocorrência. Nos bovinos, o corpo lúteo é necessário para a manutenção da gestação na primeira metade da mesma. A sua destruição durante este período resulta no término da gestação com expulsão do feto e membranas fetais. No entanto, em caso de morte fetal sem ocorrência de luteólise, o

resultado é a mumificação do feto e membranas fetais, processo que pode evoluir para maceração fetal, se ocorrer contaminação bacteriana (Caldow & Gray, 2004).

Já na segunda metade da gestação, esta é corpo lúteo independente pelo que a luteólise não desencadeia o aborto. Nesta fase, o aborto pode ocorrer por morte ou *stress* fetal. No caso de morte fetal, o feto apresenta geralmente evidências de autólise como a presença de fluido sanguinolento nas cavidades corporais e perda de detalhe microscópico das células. Quando o *stress* fetal desencadeia a resposta esteróide necessária ao mecanismo do parto antes do 260º dia de gestação, ocorre a expulsão de um feto relativamente sem autólise mas que pode apresentar sinais de *stress* fetal prolongado como manchas de mecónio na região perineal e inalação ou ingestão de mecónio (Caldow & Gray, 2004).

3.2- Revisão bibliográfica: Causas de aborto em bovinos

3.2.1) Causas não infecciosas de aborto

A falha em identificar uma causa infecciosa concreta numa percentagem relativamente grande de abortos, levou à sugestão de que as causas não infecciosas deviam também ter importância na ocorrência dos mesmos (Caldow & Gray, 2004). Nestes casos, uma boa anamnese e exame físico da fêmea em causa revestem-se de uma importância ainda maior, já que é pouco provável que se obtenha um diagnóstico apenas através de análises laboratoriais (Pritchard, 1990). O seu diagnóstico é, geralmente, mais difícil já que muitas vezes a causa não é detetável na amostra colhida (causas tóxicas ou genéticas) ou não se dispõem dos meios de diagnóstico adequados (Rivera, 2001).

Os abortos por causas não infecciosas são mais prevalentes na espécie bovina do que noutras espécies animais e podem ser devidos a fatores físicos, nutricionais, tóxicos e genéticos (Jainudeen & Hafez, 2000).

3.2.1.1) Fatores físicos

Nos fatores físicos, apontam-se como causas de aborto o trauma e hipertermia na progenitora (Cabell, 2007).

Dada a proteção fornecida pelo líquido amniótico, o trauma, ainda que severo, raramente resulta em aborto (Kahn, 2011).

Já a hipertermia desencadeia a ocorrência de *stress* térmico com consequente hipotensão, hipóxia, e acidose fetais, originando *stress* fetal, com desenvolvimento da resposta esteróide necessária ao parto. A hipertermia devido a piréxia parece ser mais importante no desencadear do *stress* térmico e suas consequências do que o aumento de temperatura ambiental (Caldow & Gray, 2004; Kahn, 2011).

Além dos fatores acima mencionados, regista-se também maior incidência de abortos no caso de gestações gemelares. Estas implicam por vezes a redução da gestação para períodos inferiores a 260 dias, ocorrendo aborto (Caldow & Gray, 2004; Kahn, 2011).

3.2.1.2) Fatores nutricionais

A deficiência em iodo tem sido associada com a ocorrência de nados mortos e nascimento de vitelos fracos. Nestes casos, a tiróide do feto está aumentada de tamanho, geralmente devido a deficiência em iodo na dieta da progenitora. No entanto a deficiência pode ser secundária a elevada ingestão de cálcio e/ou de espécies pertencentes ao género *Brassica* (Cabell, 2007).

Os micronutrientes não estão comumente implicados na ocorrência de aborto, mas a deficiência em Selénio e vitamina E tem sido associada a abortos em bovinos. Tem também sido observada aumento da prevalência de abortos em explorações em que a dieta é deficiente em vitamina A ou no seu precursor beta-caroteno o que se deve ao seu papel na manutenção da integridade dos epitélios e membranas mucosas, sendo que a deficiência nesta vitamina provoca alterações degenerativas nestes tecidos (Cabell, 2007; Rood, 2011).

3.2.1.3) Fatores tóxicos

Um grande número de agentes tóxicos têm sido associados com a ocorrência de aborto em bovinos, embora seja pouco provável que este ocorra na ausência de outros sinais clínicos de envenenamento. As intoxicações podem dever-se ao consumo de plantas, com maior relevância para *Conium maculatum*, *Oxytropis* e *Astragalus*, *Pinus ponderosa*, *P.contorta* e *Juniper communis*, *Gutierrezia microcephala* e *G. sarothrae*, à

ingestão de nitratos/nitritos quer a partir de plantas que realizam a sua acumulação, quer de fertilizantes e ainda à ingestão de alimentos contaminados com micotoxinas (Cabell, 2007; Casteel, 2007).

3.2.1.3.1) Plantas tóxicas com potencial abortivo em bovinos

Do ponto de vista económico, são as plantas dos géneros *Oxytropis* e *Astragalus* as que possuem maior impacto negativo na reprodução bovina. A sua ingestão por períodos de quatro a seis semanas, é responsável pela ocorrência de aborto em qualquer estágio da gestação, teratogénese e morte fetal (Casteel, 2007).

Quanto a *Conium maculatum*, a sua ingestão ocorre mais frequentemente na primavera pois é uma das primeiras plantas a surgir. A ingestão de cerca de 410-840 g da planta verde entre os dias 50 e 75 de gestação provoca aborto ou nascimento de vitelos com múltiplas contracturas nos membros (Casteel, 2007).

As agulhas dos pinheiros pertencentes às espécies *Pinus ponderosa*, *P. contorta* e *Juniper communis*, provocam aborto quando consumidas no último trimestre da gestação. Geralmente o aborto ocorre um a três dias após o consumo de quantidades superiores a dois kg por dia, prolongado por mais de três dias. O princípio tóxico presente é o ácido isocuprédico, responsável pela constrição severa da circulação sanguínea ao corno uterino gestante, provocando hipóxia e *stress* fetais, responsável pelo desencadear do mecanismo do parto (Casteel, 2007).

A planta *Gutierrezia microcephala* assim como *G. sarothrae*, são também das primeiras a surgir na primavera. Os princípios tóxicos (mono e diterpenos, saponinas e ésteres) provocam aborto ou nascimento de vitelos fracos, não tendo sido identificados agentes abortivos específicos (Casteel, 2007).

3.2.1.3.2) Intoxicação por nitratos/nitritos

Os ruminantes são particularmente sensíveis à intoxicação por nitratos devido à capacidade de redução dos mesmos pelos microrganismos ruminais, o que torna esta espécie suscetível quer aos nitritos quanto aos nitratos. A redução bacteriana de nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-) é um passo intermediário na formação de amoníaco (NH_3). O nitrito formado pode ser absorvido pela corrente sanguínea, onde oxida o ião Fe^{2+} da hemoglobina a Fe^{3+} , originando metahemoglobina. Esta não realiza o transporte de oxigénio aos tecidos provocando hipóxia tecidual. Desta forma, a transferência

placentária de oxigénio pode ficar severamente diminuída, com consequente hipóxia e posterior morte fetal. Geralmente estão também presentes na fêmea outros sinais clínicos desta intoxicação, como dispneia severa, espasmos musculares e mucosas de cor castanha (Cabell, 2007; Casteel, 2007).

3.2.1.3.3) Ingestão de micotoxinas

Também a ingestão de micotoxinas pode ser responsável pela ocorrência de aborto. Os alcaloides produzidos pelo género *Claviceps*, são potentes estimulantes da musculatura uterina, originando contrações miométriais no final da gestação. Além destes, também aflatoxinas provocam aborto por alteração da homeostase materna (Casteel, 2007).

3.2.1.4) Fatores genéticos

A verdadeira incidência de aborto em bovinos devido a fatores genéticos é desconhecida já que alguns abortos podem não apresentar lesões reconhecíveis fenotipicamente (Kahn, 2011).

Um exemplo é a malformação vertebral complexa que ocorre em bovinos de raça pura Holstein, provocada por um gene recessivo quando em homozigotia. Outros defeitos que podem resultar na ocorrência de nados mortos incluem discondroplasia (vitelos *bulldog*) e anomalias cromossômicas que embora possam não ser refletidas por alterações físicas visíveis, são incompatíveis com a vida do feto (Cabell, 2007).

3.2.2) Causas infecciosas de aborto

Os agentes infecciosos podem afetar o feto em qualquer etapa do seu desenvolvimento, ocasionando morte (com ou sem a sua expulsão), malformações congénitas, nados mortos, nascimento de crias débeis ou crias persistentemente infetadas (Rivera, 2001).

Após o desenvolvimento do sistema imunitário (a partir dos 120-125 dias em bovinos), o feto torna-se capaz de responder à infeção mediante processos inflamatórios e ativando os mecanismos de imunidade celular e humoral (Rivera, 2001).

Os abortos devidos a causas infecciosas podem ser provocados por agentes bacterianos, micóticos, parasitários e virais (Cabell, 2007).

3.2.2.1) Agentes bacterianos

As bactérias são os agentes infecciosos mais comumente citados como causadores de aborto em bovinos representando cerca de 48-58% dos abortos provocados por agentes infecciosos, sendo que cerca de 82% são provocados por organismos considerados oportunistas (Yaeger & Holler, 2007).

Os agentes bacterianos provocam aborto quer indiretamente, pelo prejuízo da função uterina (por exemplo, por endotoxemia, com síntese de prostaglandinas e consequente aborto, ou indução de coagulação intravascular disseminada que interfere com a circulação placentária e resulta em hipóxia fetal) quer por agressões diretas ao componente materno da placenta (por exemplo, *Brucella abortus*) (Cabell, 2007).

Os agentes bacterianos oportunistas classificam-se em: 1) bactérias que fazem parte da microflora normal das membranas mucosas (*Arcanobacterium pyogenes*, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia hemolytica*, *Histophilus somni*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.), e 2) bactérias de distribuição ubiquitária no meio ambiente (*Bacillus* spp., *Pseudomonas* sp, *E. coli*). A relevância do isolamento destes agentes a partir de um concepto bovino abortado, depende da incidência de aborto e dos sinais clínicos presentes na exploração. O isolamento de uma ou mais espécies de bactérias oportunistas durante um surto de aborto sugere que 1) está a ser facilitado o acesso destes microrganismos à corrente sanguínea materna (por exemplo, em casos de ruminite, lesões externas ou alimento de má qualidade que provoca microlesões no trato digestivo anterior) ou, 2) os abortos são consequência de outra afeção (Yaeger & Holler, 2007).

Quanto aos agentes bacterianos específicos, vários autores dão maior relevância a *Brucella abortus*, *Campylobacter fetus venerealis*, *Chlamydophila abortus*, *Leptospira interrogans* serovariedade Hardjo, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp. (Givens, 2006; Christensen *et al.*, 2009). A maior relevância dada a estes agentes prende-se com o seu eventual potencial zoonótico, capacidade de provocar surtos de aborto ao invés de aborto esporádico assim como pela sua elevada transmissibilidade entre animais. Os abortos provocados pelos diferentes agentes infecciosos podem ocorrer em diferentes fases da gestação, como é possível observar na tabela 12.

Tabela 12: Principais agentes bacterianos implicados no aborto em bovinos (adaptado de Christensen *et al.*, 2009).

Agente	Momento de gestação em que ocorre aborto
<i>Brucella abortus</i>	Terceiro trimestre
<i>Campylobacter fetus venerealis</i>	Morte embrionária precoce. Aborto esporádico.
<i>Chlamydophila abortus</i>	Terceiro trimestre
<i>Histophilus somni</i>	Qualquer momento
<i>Leptospira interrogans</i> serovariedade Hardjo	Quinto a nono mês de gestação
<i>Listeria monocytogenes</i>	Oitavo a nono mês de gestação
<i>Salmonella</i> sp.	Terceiro trimestre

3.2.2.1.1) *Brucella abortus*

A brucelose é uma doença de elevada importância económica em bovinos, que se caracteriza, entre outras evidências, pela ocorrência de abortos no último trimestre da gestação (Samartino & Enright, 1993). Além dos efeitos negativos na produção bovina, a doença é também uma importante zoonose (Caldow & Gray, 2004).

O agente, *Brucella abortus*, é um cocobacilo gram-negativo intracelular facultativo (Yaeger & Holler, 2007), com tropismo para a placenta dos ruminantes, sendo o feto suscetível à infeção principalmente no final da gestação (Samartino & Enright, 1993). A bactéria é capaz de sobreviver e multiplicar-se dentro das células fagocitárias e dos tecidos linfoides devido à sua capacidade de prevenir a fusão dos lisossomas com o fagossoma (Yaeger & Holler, 2007).

A vaca infetada é o principal reservatório do agente. O feto abortado, membranas fetais e corrimento uterino contêm um elevado número destes organismos. A transmissão resulta geralmente da ingestão de produtos de aborto por *B. abortus* (feto, membranas fetais e corrimento uterino) ou de material contaminado com estes. A *Brucella abortus* pode estar presente no corrimento uterino cerca de duas semanas antes do parto ou aborto, até duas a três semanas depois do mesmo. O período de incubação da doença varia entre duas semanas, podendo ultrapassar o ano (Yaeger & Holler, 2007).

Após o estabelecimento da infeção, esta tende a persistir indefinidamente. Nem todas as infeções resultam em aborto e menos de 20% das vacas infetadas abortam mais do que

uma vez (Yaeger & Holler, 2007), no entanto, os fluídos uterinos continuam a representar uma fonte de infecção (Caldow & Gray, 2004).

3.2.2.1.1.1) Patogénese

A *Brucella abortus* penetra a mucosa da cavidade nasal ou oral após a ingestão de produtos de aborto ou alimentos contaminados com a bactéria. Esta localiza-se inicialmente nos linfonodos, é transportada até ao útero pela corrente sanguínea onde infeta inicialmente o endométrio, disseminando-se depois para a placenta e feto. Dado que o crescimento de *B. abortus* é favorecido pelos fluídos fetais, pensa-se que o tropismo deste microrganismo para estes tecidos se deve à presença de eritritol, um álcool com 4 átomos de carbono, que atua como uma invulgar fonte deste elemento químico para o metabolismo bacteriano (Samartino & Enright, 1993; Yaeger & Holler, 2007).

Anderson *et al.* (1986), sugeriram que as células trofoblásticas são o primeiro tipo celular envolvido na patogénese do aborto provocado por *B. abortus* (citado por Samartino & Enright, 1993). A contiguidade entre as células trofoblásticas placentárias e corionalantóicas parece permitir a disseminação bacteriana para a membrana corionalantóide, originando necrose trofoblástica e ulceração corionalantóide. A replicação intracelular nos trofoblastos corionalantóicos é responsável pela acumulação massiva de *B. abortus* na placenta, e resulta na destruição destas células. Após a replicação bacteriana nas células trofoblásticas ocorre a bacteriémia fetal, sendo o aborto provocado por placentite intercotiledonar purulenta, com necrose dos cotilédones (Samartino & Enright, 1993; Caldow & Gray, 2004; Yaeger & Holler, 2007).

Ao comparar a multiplicação bacteriana de *B. abortus* na membrana corionalantóide de placentas aos 7-8 meses de gestação, com a sua multiplicação nas placentas com 3 meses de gestação, verifica-se que às 28h pós-incubação apenas nas placentas com idade gestacional mais avançada ocorre crescimento significativo, pelo que é possível inferir que os fatores endógenos que contribuem para a multiplicação e/ou inibição da multiplicação bacteriana estão presentes em fases diferentes da gestação (Samartino & Enright, 1993), o que pode estar implicado na ocorrência de aborto apenas no último trimestre de gestação.

3.2.2.1.1.2) Sinais clínicos

O principal sinal clínico de brucelose é o aborto, geralmente após o quinto mês de gestação. A metrite e a retenção de membranas fetais são sequelas frequentes da ocorrência de aborto. Ao invés de ocorrer aborto, as vacas infetadas podem também parir vitelos fracos que morrem pouco depois do nascimento (Caldow & Gray, 2004; Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.1.3) Evidências anatomopatológicas e histopatológicas

A lesão mais comumente observada no concepto é a placentite. Em casos graves, a placenta intercotiledonar apresenta-se seca, espessada e fendida, coberta ou não por um exsudado de coloração amarelada. Os cotilédones podem apresentar focos de necrose e estar cobertos por exsudado. Os pulmões do feto estão por vezes aumentados, firmes à palpação e cobertos por finos fios de fibrina (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.1.4) Diagnóstico

O diagnóstico definitivo de aborto provocado por *B. abortus*, requer o isolamento do microrganismo a partir dos tecidos do feto ou do corrimento uterino. A bactéria pode ser isolada a partir do conteúdo abomasal, pulmão, membranas fetais, e fluídos uterinos, podendo também ser isolado do leite, colostro e mecônio. Quando estão presentes lesões suspeitas mas cultura negativa, podem ser realizados procedimentos de imunohistoquímica para confirmar a presença do agente infeccioso (Yaeger & Holler, 2007).

Após confirmação do diagnóstico, a existência de outros animais infetados é geralmente identificada mediante testes sorológicos. No entanto, estes podem não identificar todos os animais infetados, pois em cerca de 15% das vacas infetadas não ocorre seroconversão até que ocorra aborto ou parto (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.2) *Campylobacter fetus venerealis*

A campilobacteriose genital bovina é uma doença venérea provocada por *Campylobacter fetus* spp. *venerealis*, que se acredita ter elevada prevalência em várias regiões do mundo, principalmente naquelas onde predomina a produção de bovinos em regime extensivo e com utilização de cobrição natural (Jimenez *et al.*, 2011). As perdas económicas resultam de baixas taxas de concepção, aumento das taxas de refugo por infertilidade e diminuição do peso dos vitelos ao desmame (Yaeger & Holler, 2007). A

doença tipicamente provoca infertilidade na fêmea com um aumento do número de cobrições por concepção e ocasionalmente aborto no final da gestação (dos 4 meses até ao termo) (Hoffer, 1981).

Este microrganismo é um parasita obrigatório do trato reprodutivo bovino, sendo o touro portador assintomático. Os efeitos clínicos da infeção manifestam-se na fêmea.

Os bovinos são o principal hospedeiro e reservatório do microrganismo, sendo que a infeção do trato reprodutivo nas vacas e jovens touros é geralmente transitória. Os machos reprodutores não representam portadores crónicos deste agente até aos quatro anos de idade (aproximadamente), sendo que a maioria só desenvolve o estado de portador crónico a partir dos cinco ou seis anos de idade. Nesta altura, os touros perdem a capacidade de eliminar o agente, podendo albergá-lo na cavidade prepucial indefinidamente o que ocorre, provavelmente, devido ao aumento do número e tamanho das criptas epiteliais na mucosa peniana (Hoffer, 1981; Yaeger & Holler, 2007). O fôrnix prepucial e o pénis são os locais onde existe maior concentração bacteriana, sendo o lúmen das criptas epiteliais o principal local de proliferação. A baixa estimulação antigénica provocada pelo organismo, restrito à superfície epitelial, pode explicar a apreciável falta de formação de anticorpos e pode ser um importante fator na prolongada permanência da bactéria na cavidade prepucial. Além disso, a ocorrência de alterações na composição da superfície antigénica durante a infeção da cavidade prepucial podem representar um fator adicional no favorecimento do estado de portador tanto em touros como em novilhas (Hoffer, 1981).

As vacas ficam infetadas quer através de cobrição natural, quer de inseminação artificial com sémen contaminado. Ambos os sexos podem ser infetados por via iatrogénica, através da utilização de instrumentos contaminados com o agente. As fêmeas bovinas infetadas desenvolvem imunidade e geralmente eliminam o organismo três a seis meses após a infeção e, na maioria dos animais, o microrganismo não sobrevive a uma gestação normal. Algumas vacas persistentemente infetadas podem permanecer portadoras por cerca de um ano, existindo relatos de vacas que permaneceram infetadas durante cerca de 196 dias além do fim da gestação originada com sémen infetado. Após a eliminação da infeção, as vacas ficam resistentes à reinfeção apenas por um curto período de tempo (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.2.1) Patogénese

Após a exposição ao agente, a vagina e cérvix são colonizadas e a infecção dissemina-se para o útero e ovidutos em 12 a 14 dias (Yaeger & Holler, 2007). Dada a existência de numerosos neutrófilos no útero durante o estro, os microrganismos não colonizam este órgão até à fase progesterónica do ciclo éstrico, quando o número de neutrófilos diminui e a bactéria consegue invadir o útero (Hoffer, 1981).

Após a colonização uterina, o microrganismo despoleta uma resposta imunitária local, na qual ocorre a síntese de imunoglobulina A, G e M. Pensa-se que esta síntese ocorre apenas a nível local, dado que não são descritas quantidades apreciáveis no soro após a infecção. Foi demonstrado que a IgG é predominante nas secreções uterinas de animais convalescentes, enquanto a IgA é encontrada principalmente no muco cervicovaginal. A IgG atua como opsonina, auxiliando os neutrófilos e macrófagos na fagocitose, enquanto a IgA apenas imobiliza o microrganismo, possibilitando a sua manutenção na área cervicovaginal. Com a manutenção do agente na mesma, a fêmea bovina pode ficar gestante num estro posterior mas continuar portadora do agente na área cervicovaginal, e consequentemente representar uma fonte de infecção. Além do papel da IgG e IgA, existe também a sugestão da intervenção posterior da imunidade celular e complemento (Hoffer, 1981).

As manifestações clínicas na fêmea parecem depender da dose infetante e da taxa de replicação bacteriana no útero. A rápida replicação provoca a morte do embrião ou feto em desenvolvimento geralmente entre os dias 15 e 80 de gestação. Visto que a morte embrionária ocorre geralmente após o reconhecimento materno da gestação (entre os dias 15-17), o retorno ao cio será atrasado. No entanto, se a replicação bacteriana ocorrer de forma mais lenta, ocorre aborto a meio da gestação (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.2.2) Sinais clínicos

Embora raramente observados, a infecção está associada com vaginite, cervicite e endometrite. Em explorações em que existe um bom sistema de registo e análise de dados, será identificado um aumento do número de *repeat breeders*. As taxas de gestação serão baixas (40-70%), registando-se um grande leque de idades gestacionais

aquando da realização de diagnósticos de gestação. Menos de 10% dos animais infectados irão abortar um feto detetável, geralmente entre os 4 e os 7 meses de gestação.

3.2.2.1.2.3) Diagnóstico

O diagnóstico baseia-se 1) no isolamento do microrganismo, 2) na demonstração do agente nos tecidos do feto, lavagens prepuciais ou muco vaginal com testes de imunofluorescência direta, ou 3) detecção de anticorpos no muco vaginal por um teste de ELISA ou testes de aglutinação.

No caso de aborto, o diagnóstico definitivo baseia-se no isolamento do organismo a partir do conteúdo pulmonar ou gástrico do feto (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.3) *Chlamydophila abortus*

Nos bovinos, a clamidiose é descrita a nível mundial como causa de queratoconjuntivite, pneumonia, enterite, poliartrite-poliserosite, encefalomielite, mastite, vesiculite, infertilidade e aborto. Ao contrário do que acontece nos pequenos ruminantes, em que *Chlamydophila abortus* é um dos principais implicados como causa de aborto, nos bovinos parece ser um agente patogénico pouco comum do trato reprodutivo, provocando aborto esporádico (Cavirani *et al.*, 2001; Yaeger & Holler, 2007). Além de *C. abortus*, também outros agentes da ordem Chlamydiales têm sido envolvidos como causa de aborto em bovinos, nomeadamente *Waddlia chondrophila* e *Parachlamydia acanthamoebae*. Tanto *W. chondrophila* como *P. acanthamoebae* aparentam ser pouco relevantes como agentes abortivos em bovinos, porém não devem ser esquecidas dado o seu potencial zoonótico (Blumer *et al.*, 2011).

A ordem Chlamydiales compreende um grupo de microrganismos intracelulares obrigatórios cujo ciclo de vida alterna entre uma fase infetante (corpos elementares (CE)) e uma vegetativa (corpos reticulares (CR)) (Cavirani *et al.*, 2001). A nível extracelular, o microrganismo existe sob a forma de corpos elementares, metabolicamente inativos e incapazes de crescer ou multiplicar-se. Estes, ligam-se às células do hospedeiro e são internalizadas por fagocitose. No interior do fagossoma, os CE diferenciam-se em CR, metabolicamente ativos e capazes de formar microcolónias intravacuolares – inclusões. Com a lise da célula hospedeira são libertados novos CE

infetantes, permitindo a disseminação da infecção para outras células suscetíveis (Radostitis *et al.*, 2007b).

Nos ruminantes, o epitélio intestinal parece representar um importante habitat natural para *C. abortus*. As infecções intestinais persistentes são comuns e o microrganismo pode ser libertado nas fezes e secreções nasal, ocular e vulvar e ainda no corrimento uterino, membranas fetais ou urina. A infecção estabelece-se pela ingestão ou inalação destes materiais contaminados com a forma infetante (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.3.1) Patogénese

Após a infecção, o microrganismo permanece inicialmente nas tonsilas sendo depois disseminado pelo sangue e linfa para outros órgãos, onde permanece no estado latente (Radostitis *et al.*, 2007b).

Durante a gestação a bactéria abandona a latência (o que se acredita ser resultado da modulação imunitária característica desta fase), originando bacteriémia e infecção placentária. O microrganismo invade as células trofoblásticas dos cotilédones fetais a partir de onde se dissemina para a região intercotiledonar do córion, produzindo placentite necrótico-supurativa com comprometimento da troca de nutrientes e oxigénio entre a progenitora e o feto, resultando em morte fetal e aborto (Radostitis *et al.*, 2007b).

3.2.2.1.3.2) Sinais Clínicos

Os abortos em bovinos são geralmente esporádicos, embora possam atingir até 20% das vacas gestantes, ocorrendo principalmente no último trimestre de gestação. Além de aborto, pode também ocorrer o nascimento de vitelos fracos, com letargia, depressão e/ou malformações (Radostitis *et al.*, 2007b; Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.3.3) Evidências anatomopatológicas e histopatológicas

A principal lesão de aborto por *C. abortus* é a placentite, que se manifesta por espessamento e necrose da região intercotiledonar com necrose das vilosidades cotiledonares. Os fetos em final de gestação podem também exibir distensão abdominal por ascite, hepatomegalia e coloração amarelo-avermelhado do fígado bem como adenomegalia generalizada (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.3.4) Diagnóstico

O diagnóstico de aborto por *C. abortus* pode realizar-se através da demonstração do microrganismo nos tecidos ou membranas fetais (através de cultura microbiológica, teste de ELISA, ou reação em cadeia da polimerase (PCR)), detecção de anticorpos no fluido torácico fetal, ou resposta serológica na fêmea (Yaeger & Holler, 2007).

O aborto de um feto infetado com *C. abortus* estimula uma rápida elevação nos títulos de anticorpos da progenitora (frente a este agente), título este que atinge o valor máximo cerca de 14 a 21 dias após o término da gestação. Assim, a obtenção de amostras emparelhadas da fêmea (no momento do aborto e duas a três semanas após o mesmo) irão demonstrar um aumento significativo no título de anticorpos frente a *C. abortus* (Yaeger & Holler, 2007).

Quanto ao feto, dado que a infecção por *C. abortus* provoca aborto após a infecção crónica do feto, pode muitas vezes demonstrar-se a seroconversão do mesmo a partir dos seus fluidos (Yaeger & Holler, 2007).

No entanto, outros autores (Blumer *et al.*, 2011) defendem que a definição de aborto por *C. abortus* deve incluir a identificação histológica de placentite purulenta e/ou necrosante, idealmente incluindo vasculite, nas membranas fetais, assim como a confirmação do agente por PCR ou por técnicas de imunohistoquímica.

3.2.2.1.4) *Histophilus somni*

Este microrganismo, associado a um complexo de afeções que incluem meningoencefalite tromboembólica, poliartrite, pneumonia, miocardite, e infecções do trato reprodutivo, tem também sido isolado em casos de aborto, sendo também possível a indução experimental de aborto através da sua inoculação, em qualquer fase da gestação. Contudo, os dados disponíveis indicam que *H. somni* não é uma das principais causas de aborto em bovinos. Os surtos são raros e a maioria dos abortos provocados por este agente são casos esporádicos (Yaeger & Holler, 2007).

O microrganismo é um cocobacilo gram-negativo que pertence à microflora normal do trato reprodutivo masculino e feminino, sendo este o seu reservatório. É eliminado na urina ou no corrimento vaginal, contaminando o ambiente (Yaeger & Holler, 2007).

A infecção de outros animais parece resultar da contaminação do ambiente através das secreções respiratórias, vaginais e urina. Existem relatos de que os touros podem infetar

as vacas e o organismo é rapidamente disseminado através da cobrição natural (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.4.1) Patogenia

O aborto por este agente tem sido experimentalmente reproduzido pela sua inoculação intravenosa, intratraqueal e intra-amniótica. O aborto é provavelmente secundário à disseminação hematogena após infecção vaginal ou respiratória (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.4.2) Evidências anatomopatológicas e histopatológicas

As lesões reconhecíveis estão geralmente confinadas à placenta e consistem de lesões necrosantes a necrossupuradas com edema placentário. O microrganismo tem a mesma afinidade pelo sistema vascular no adulto e no feto e o exame microscópico da placenta e feto geralmente revela lesões de vasculite (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.4.3) Diagnóstico

O diagnóstico baseia-se na recuperação do microrganismo a partir das membranas fetais e do feto. O isolamento de uma cultura pura a partir dos tecidos do feto é, geralmente, diagnóstico. Já o isolamento a partir das membranas fetais pode ser devido a contaminação no canal do parto, pelo que os resultados da cultura devem ser interpretados juntamente com as lesões placentárias, particularmente vasculite (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.5) *Leptospira* serovariedade Hardjo

A leptospirose é uma zoonose com distribuição ubiqüitária, que se deve à infecção com espécies patogénicas do género *Leptospira*, estando associada a graves perdas financeiras pela ocorrência de aborto, nascimento de nados-mortos, infertilidade e diminuição ou ausência de produção leiteira (Levett, 2001; Bolin, 2005; Hatem *et al.*, 2008).

Os organismos do género *Leptospira* são espiroquetas, e podem ser encontrados numa grande variedade de espécies animais, assim como na água (Yaeger & Holler, 2007). Os agentes patogénicos do género *Leptospira* foram inicialmente classificados como pertencentes à espécie *Leptospira interrogans*; no entanto o género foi reorganizado sendo as leptospiras patogénicas atualmente classificadas em 7 espécies distintas.

Dentre estas são reconhecidas várias serovariedades com base nos antígenos presentes na sua superfície, sendo que aproximadamente 200 são patogénicas (Bolin, 2005).

As serovariedades são classificadas como adaptadas ou não adaptadas ao hospedeiro. Assim, um animal infetado com uma serovariedade adaptada à sua espécie representa um hospedeiro de manutenção. Já quando a infeção ocorre com uma serovariedade não adaptada à espécie em causa, o hospedeiro toma a designação de hospedeiro accidental. Cada serovariedade tende a ser mantida em hospedeiros de manutenção específicos. O hospedeiro de manutenção é definido como a espécie que possui elevada suscetibilidade à infeção, na qual a infeção é endémica, com eficiente transmissão entre animais da mesma espécie através do contacto direto, produção de doença crónica mais frequentemente do que doença aguda, persistência da infeção no trato urogenital, baixo título de anticorpos em resposta à infeção (dificultando o diagnóstico da mesma) e ainda, baixa eficácia da vacinação na prevenção da infeção (Levett, 2001; Radostitis *et al.*, 2007c; Yaeger & Holler, 2007).

Na Europa, a serovariedade com maior importância é a Hardjo, para a qual os bovinos representam o hospedeiro de manutenção, sendo muitos animais seronegativos. Podem distinguir-se dois genótipos desta serovariedade: *Leptospira interrogans* serovariedade Hardjo (genótipo hardjoprajitno) e *L. borgpetersenii* serovariedade Hardjo (genótipo hardjo-bovis) (Levett, 2001; Bolin, 2005). Segundo Hairgrove (2004), o genótipo hardjo-bovis parece estar mais adaptado ao hospedeiro do que o genótipo hardjoprajitno, sendo excretado em maiores quantidades e o genótipo presente na maioria dos países.

3.2.2.1.5.1) Transmissão

A transmissão entre hospedeiros de manutenção envolve muitas vezes o contacto direto das membranas mucosas (conjuntival, nasal, vaginal/peniana) com urina, fluídos uterinos, ou leite contaminados. Além desta, pode também ocorrer transmissão transplacentária e venérea. Nos hospedeiros accidentais a infeção é geralmente adquirida pelo contacto indireto com o hospedeiro de manutenção infetado (por exemplo, contacto com fontes de água contaminada com urina dos hospedeiros de manutenção) (Hanson, 1975; Levett, 2001; Yaeger & Holler, 2007). Nestes, a infeção é mais frequente na primavera, verão e outono em regiões temperadas pois as condições atmosféricas caracterizadas por temperaturas amenas, humidade elevada e pH próximo da neutralidade

favorecem a sobrevivência das leptospiiras no meio ambiente, sendo esta rapidamente destruída pelo calor, dessecação e pela grande maioria de produtos químicos (Hanson, 1975). No caso dos hospedeiros de manutenção os fatores ambientais são pouco relevantes na epidemiologia da infecção, dado que esta ocorre através do contato direto (Hairgrove, 2004; Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.5.2) Patogenia

Após um período de incubação de cerca de 4-10 dias, segue-se uma fase de bacteriemia. Esta fase é geralmente subclínica, mas pode também estar associada a doença clínica aguda, sendo a febre o primeiro sinal clínico detetável da infecção (Hanson, 1975; Yaeger & Holler, 2007). Nas fêmeas gestantes, após a infecção sistêmica, pode ocorrer aborto devido a morte fetal, com ou sem degeneração placentária. O aborto provocado por *Leptospira* pode ser dividido em síndromes relativamente diferentes dependendo de ser provocado por uma estirpe adaptada ao hospedeiro ou se a vaca representa um hospedeiro acidental. No caso de infecção acidental, a serovariedade Pomona tem sido a mais implicada, sendo a espécie suína o seu hospedeiro de manutenção (Bolin, 2005; Yager & Holler, 2007).

O aborto tem lugar várias semanas após a bacteriemia, desde 1 a 6 semanas (serovariedade Pomona) até 4 a 12 semanas (serovariedade Hardjo), e o feto está frequentemente autolisado. Geralmente observa-se na segunda metade da gestação (provavelmente por uma maior facilidade de invasão placentária), mas pode ocorrer a partir dos 4 meses de gestação (Radostitis *et al.*, 2007c). Nos animais não gestantes a infecção é geralmente subclínica, sendo apenas detetada a presença do agente pela existência de nefrite intersticial aquando do abate (Bolin, 2005).

Após a leptospirose, os microrganismos localizam-se no fígado, rim, glândula mamária e trato genital, sendo os três últimos os mais consistentemente afetados e onde os anticorpos circulantes não conseguem exercer a sua ação (animais cronicamente infetados). A bactéria continua a multiplicar-se nos túbulos renais (onde permanece cronicamente), sendo depois eliminada na urina. Pode também ocorrer eliminação através do corrimento uterino pós-parto e do sêmen, dada a possibilidade de localização no trato genital (Bracken, 1955; Hanson, 1975; Levett, 2001; Radostitis *et al.*, 2007c; Yaeger & Holler, 2007).

No caso de infecções com a serovariedade Hardjo, o microrganismo é eliminado na urina continuamente por quatro a seis semanas e de forma intermitente por seis a doze meses. No entanto, a excreção urinária do microrganismo pode prolongar-se por toda a vida do animal. Com o genótipo hardjoprajitano a eliminação urinária é baixa e a transmissão venérea mais importante (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.5.3) Sinais clínicos

A leptospirose nos bovinos apresenta duas fases: a primeira, após o período de incubação, na qual ocorre a leptospirémia sendo os sinais clínicos relacionados com a lesão provocada no sistema vascular (petéquias, anemia hemolítica, hemoglobinúria, icterícia, congestão pulmonar, entre outros (Radostitis *et al.*, 2007c)). Se o animal sobrevive a esta fase, a infecção fetal irá resultar em aborto, nados mortos e nascimento de vitelos fracos (Bolin, 2005). A incidência de aborto pode ser muito alta (até 50%) após uma infecção acidental (geralmente com a serovariedade Pomona). As taxas de aborto tendem a ser mais baixas com a serovariedade Hardjo (3-10%) podendo atingir os 30% (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.5.4) Evidências anatomopatológicas e histopatológicas

Não foram identificadas lesões características. Por vezes o feto abortado apresenta icterícia.

3.2.2.1.5.5) Diagnóstico

O diagnóstico da infecção no hospedeiro de manutenção é muitas vezes difícil dada a relativamente baixa resposta de anticorpos e a presença de poucos microrganismos nos tecidos dos hospedeiros de manutenção (Yaeger & Holler, 2007).

Nos casos de aborto, este baseia-se na demonstração do microrganismo nos tecidos fetais ou identificação de uma resposta serológica na fêmea ou no feto. No entanto, a bactéria pode não estar presente nos tecidos do feto (Radostitis *et al.*, 2007c), além de que é de difícil identificação e isolamento. Assim, este não é o procedimento de diagnóstico rotineiramente utilizado, sendo o PCR o procedimento com maior sensibilidade no diagnóstico da infecção por agentes do género *Leptospira*.

O feto desencadeia uma resposta serológica a partir dos 4-5 meses de gestação. Dado que os anticorpos maternos não atravessam a barreira placentária, a presença de

anticorpos antileptospira no fluido torácico ou soro fetal indica infecção *in utero* (Bolin, 2005; Yaeger & Holler, 2007).

Quanto à interpretação dos testes serológicos na progenitora, esta é complicada por variados fatores, onde se incluem os títulos vacinais, diferenças na resposta das serovariedades em hospedeiros de manutenção *versus* hospedeiros acidentais e ainda, falta de consenso acerca de quais os títulos de anticorpos que indicam infecção ativa (Bolin, 2005). Um elevado título no momento do aborto ($\geq 1:1000$) num animal não recentemente vacinado sugere uma forte probabilidade de aborto por *Leptospira*. Títulos elevados são comuns após aborto por estirpes não adaptadas ao hospedeiro, contudo o contrário não é verdade. Muitas vezes, no momento do aborto os títulos de anticorpos são baixos ou indetetáveis. Os hospedeiros de manutenção podem estar ativamente infetados e eliminar leptospiros com títulos de anticorpos inferiores a 100 (valor aceite como limite de positividade). Para infecções crônicas com a serovariedade Hardjo, a probabilidade de infecção fetal é de aproximadamente 60% numa vaca que abortou recentemente e que possui título de anticorpos antileptospira de 300 ou superior, 80% com um título de 1000 ou superior, e 90% com um título de 3000 ou superior (Bolin, 2005; Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.6) *Listeria monocytogenes*

A doença é provocada pela bactéria *Listeria monocytogenes*, um cocobacilo gram-positivo amplamente distribuído na natureza, tendo sido isolado do solo, vegetação, água, fezes, lodo de esgoto e até nos tecidos de vertebrados e invertebrados. A exposição ao agente é comum mas a ocorrência doença não, principalmente nas regiões temperadas. As principais doenças provocadas por *L. monocytogenes* em ruminantes incluem encefalite, aborto e septicémia neonatal (Yaeger & Holler, 2007).

Nos animais gestantes, a bactéria tem tropismo para os tecidos fetoplacentários, para onde se dissemina por via hematogénica. A infecção fetal resulta em aborto, geralmente no último trimestre. Dada a sua distribuição ubiqüitária, podem ocorrer casos esporádicos de aborto. Os surtos são mais comuns no inverno e geralmente resultam da ingestão de alimentos contaminados, particularmente silagem mal fermentada. Embora tenham sido registadas taxas de aborto de até 50%, esta raramente excede os 15% (Yaeger & Holler, 2007; Givens & Marley, 2008).

3.2.2.1.6.1) Patogénese

A *L. monocytogenes* é uma bactéria intracelular facultativa que pode infectar as células, incluindo as células intestinais, por endocitose. Além disso, tem a capacidade de sobreviver e multiplicar-se nos macrófagos e monócitos já que a superóxido dismutase bacteriana protege-a da atividade bactericida do fagócito enquanto a listeriolisina O rompe a membrana lisossômica, permitindo ao microrganismo sobreviver no citoplasma. Nos animais gestantes, a infecção da placenta e do feto podem ocorrer nas 24 horas iniciais da bacteriemia. O edema e necrose da placenta levam ao aborto, geralmente 5-10 dias após a infecção, o que corresponde ao período de incubação. Quando a infecção ocorre no final da gestação ocorre o nascimento de nados mortos ou vitelos que rapidamente desenvolvem septicemia (Radostitis *et al.*, 2007d; Yaeger & Holler, 2007).

As infecções por via oral nem sempre produzem aborto, mas este é prontamente produzido pela inoculação intravenosa em ruminantes gestantes (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.6.2) Sinais clínicos

A maioria dos abortos por *Listeria* ocorre no último trimestre da gestação, embora o aborto possa ocorrer a partir do 4º mês de gestação. Ao contrário de outras infecções, os sinais clínicos estão muitas vezes presentes na fêmea antes, durante e após o aborto e incluem perda de peso, febre, leucograma inflamatório, metrite e retenção de membranas fetais. Os animais que sofreram aborto tendem a resistir a reinfeção. No entanto, no caso de morte fetal sem ocorrência de aborto pode desenvolver-se septicemia fatal na progenitora. Além dos sinais clínicos atrás mencionados, podem também ocorrer sinais clínicos do foro neurológico devido à existência de encefalite, juntamente com os problemas reprodutivos (Radostitis *et al.*, 2007d; Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.6.3) Diagnóstico

O diagnóstico baseia-se no isolamento do organismo a partir dos tecidos ou membranas fetais. A morte do feto deve-se, geralmente a septicemia pelo que as bactérias estão presentes em grande quantidade em todos os tecidos e fluídos, membranas fetais, e

fluido uterino. Desta forma, a coloração de gram dos fluidos fetais ou de esfregaços por aposição irá revelar numerosos cocobacilos gram-positivos e pleomórficos. Pode também ser confirmada a sua presença em tecidos fixados, através de procedimentos de imunohistoquímica (Yaeger & Holler, 2007).

3.2.2.1.7) *Salmonella sp.*

O género *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae, e representa uma importante zoonose. É amplamente reconhecido como agente patogénico entérico, e também como causa de aborto em bovinos, sendo o serótipo *Salmonella dublin* o mais frequentemente isolado e com maior relevância na Europa. Os abortos são geralmente esporádicos e mais comuns no verão e outono (Hinton, 1977; Cabell, 2007; Radostitis *et al.*, 2007b; Christensen *et al.*, 2009).

A infeção ocorre por ingestão de água ou alimentos contaminados. Os adultos infetados são muitas vezes portadores durante um curto período de tempo e excretam microrganismos nas fezes e leite. No entanto, nos serótipos adaptados ao hospedeiro (como é o caso de *S. dublin* nos bovinos) o estado de portador assintomático pode prolongar-se por longos períodos (Christensen *et al.*, 2009).

O animal pode apresentar sinais sistémicos antes da ocorrência de aborto, como febre, diarreia ou corrimento vaginal. Este pode ocorrer em qualquer fase de gestação e caracteriza-se por necrose placentária, edema e hemorragia, podendo ocorrer retenção de membranas fetais e autólise fetal (Christensen *et al.*, 2009).

Após a septicémia materna, a bactéria localiza-se numa grande variedade de tecidos, incluindo o útero gestante, onde ocorre placentite (por necrose do tecido conjuntivo dos cotilédones) e septicémia fetal, conduzindo a morte fetal. Quando a septicémia é acompanhada por endotoxémia, ocorre morte embrionária ou fetal sem necessidade de colonização do útero, pois a infeção e endotoxémia provocam libertação de prostaglandina que inicia a luteólise (Christensen *et al.*, 2009).

O diagnóstico de aborto provocado por *Salmonella dublin* requer o isolamento deste microrganismo (no feto, membranas fetais, corrimento uterino, corrimento vaginal, ou no leite), juntamente com evidência de infeção ativa. O isolamento de *Salmonella dublin* a partir dos produtos de aborto (principalmente se em cultura pura), associado a alterações significativas nos títulos de anticorpos em amostras emparelhadas obtidas com um mês de intervalo, é diagnóstico de aborto por *S. dublin*. No entanto, este

diagnóstico é muitas vezes difícil pois os títulos de anticorpos diminuem para níveis muito baixos após a ocorrência de aborto, impossibilitando a confirmação do diagnóstico (Hinton, 1977).

3.2.2.2) Aborto por protozoários

Os protozoários com potencial abortivo em ruminantes incluem *Tritrichomonas foetus*, *Neospora*, *Toxoplasma* e *Sarcocystis* spp. Os três últimos pertencem à família Sarcocystidae, sendo *Neospora caninum* o agente abortivo com maior relevância deste grupo (Abbit & Rae, 2007).

O protozoário *Tritrichomonas foetus* é responsável pela ocorrência de tricomonose, uma doença venérea que provoca principalmente morte embrionária precoce mais do que aborto (Caldow & Gray, 2004). Em casos de aborto, este ocorre a partir do segundo mês de gestação e a autólise do feto é a única lesão macroscopicamente observável.

Nos bovinos, o *T. foetus* é considerado um parasita obrigatório do trato reprodutivo, pelo que a transmissão à fêmea parece ocorrer apenas pelo contato sexual com um touro infetado. Após a infecção, que ocorre aquando da cópula, a maioria das fêmeas eliminam a infecção dentro de cerca de 4 meses, tenham ou não ficado gestantes. Nos machos, a infecção ocorre também através do contato sexual com uma fêmea infetada e, tal como no caso da campilobacteriose, também na tricomonose os animais mais velhos são mais suscetíveis à infecção (Corbeil *et al.*, 2008).

Quanto ao diagnóstico, em amostras não autolisadas, o *T. foetus* pode ser identificado pela cultura de amostras de conteúdo abomasal. O agente pode também ser histologicamente visualizado nas membranas fetais, pulmão e outros tecidos corados com hematoxilina-eosina, ou ainda recorrendo a técnicas de imunohistoquímica (Anderson, 2007). A identificação do microrganismo através de PCR fornece o diagnóstico definitivo (Corbeil *et al.*, 2008).

3.2.2.2.1) *Neospora caninum*

O parasita *Neospora caninum* é um protozoário do filo Apicomplexa, morfologicamente semelhante em algumas fases a *Toxoplasma gondii* razão pela qual só foi descrito no ano de 1988 (Dubey & Lindsay, 1996; Gay, 2006). É um parasita intracelular obrigatório, sendo responsável pela ocorrência de aborto, morte fetal,

reabsorção embrionária, mumificação fetal, nados mortos e nascimento de vitelos vivos exibindo sinais clínicos da infecção, ou ainda nascimento de vitelos vivos sem sinais clínicos, mas persistentemente infetados. Apresenta uma distribuição geográfica ubiquitária, sendo causa de elevadas perdas económicas (Maley *et al.*, 2003; Dubey & Schares, 2006).

O aborto pode ocorrer em qualquer estágio da gestação, com maior incidência entre os quatro e os seis meses da mesma (Anderson *et al.*, 2000; Canada *et al.*, 2004; Corbellini *et al.*, 2006).

3.2.2.2.1.1) Sinais clínicos

Uma manifestação clínica pouco comum da infecção do feto é o nascimento de um vitelo com sinais clínicos neurológicos. Estes incluem ataxia, diminuição do reflexo patelar, diminuição da propriocepção, incapacidade de colocar-se em estação e/ ou flexão ou hiperextensão dos membros (Dubey & Schares, 2006; Abbit & Rae, 2007).

Não existem outros sinais clínicos nas vacas que abortam devido à infecção por *N. caninum*. O feto encontra-se geralmente autolisado e não ocorre retenção das membranas fetais. Não foi descrita qualquer evidencia de sazonalidade nos abortos, ocorrendo tanto em animais adultos como em novilhas. A infecção ocorre tanto em vacas de aptidão cárnica como em vacas de aptidão leiteira, com maior relevância para estas últimas, o que se pode dever ao padrão de aborto que, ao ocorrer sensivelmente a meio da gestação, é de mais fácil identificação em animais submetidos a maior vigilância como é o caso dos animais de aptidão leiteira (Anderson *et al.*, 2000).

Têm sido descritos casos de explorações com aborto por *N. caninum* tanto de forma endémica, como de forma epidémica. No caso de endemia, a taxa de aborto da exploração mantém-se em valores superiores a 5% durante vários anos. Os casos de epidemia são menos comuns, e caracterizam-se por uma elevada proporção de aborto da população suscetível num curto período de tempo (isto é, mais de 10%, 12,5% ou 15% das vacas em risco aborta em 4, 6 ou 8 semanas respetivamente), tendo sido reportadas taxas de aborto superiores a 30% num período de poucos meses. Os casos epidémicos são geralmente provocados por infeções pós-natais, através da exposição a água ou alimentos contaminados com oócistos esporulados (Anderson *et al.*, 2000; Dubey & Schares, 2006). Pode também ocorrer uma aparente mistura dos dois padrões atrás

mencionados, em explorações com história prolongada de casos esporádicos de aborto e surtos ocasionais de abortos atribuídos a *N. caninum* (Anderson *et al.*, 2000).

Na maioria dos casos, as vacas que abortam um feto infetado com *N. caninum* irão sofrer outros abortos (menos de 5% dos animais) ou originar fetos congenitamente infetados nas gestações seguintes, sendo que esta infecção transplacentária endógena diminui com o aumento do número de partos pós-infecção da fêmea. Desta forma, o resultado clínico das gestações seguintes é variável, mas uma vaca seropositiva para *N. caninum* que aborta tem até 5,7 vezes maior risco de aborto na gestação seguinte do que uma vaca que não aborta, enquanto novilhas congenitamente infetadas apresentam 7,4 vezes maior risco de aborto (Dubey & Lindsay, 1996; Anderson *et al.*, 2000; Dubey *et al.*, 2006; Dubey & Schares, 2006).

A maioria dos vitelos que adquirem a infecção durante a gestação nascem clinicamente normais, sendo que, até 95% dos vitelos descendentes de vacas seropositivas estão congenitamente infetados, contribuindo assim para a manutenção do agente na exploração. Estes, irão apresentar elevados títulos de anticorpos anti- *N. caninum* pré colostrais, o que auxilia no diagnóstico da infecção *in* útero. (Anderson *et al.*, 2000; Dubey & Schares, 2006).

3.2.2.2.1.2) Ciclo de vida

O parasita apresenta um ciclo de vida heteroxeno, sendo o cão (*Canis familiaris*) e o coiole (*Canis latrans*) os únicos hospedeiros definitivos (HD) conhecidos. Como hospedeiros intermediários (HI) reconhecem-se as espécies bovina, ovina, caprina e equina (Dubey *et al.*, 2006; Cabell, 2007).

Existem 3 estadios infetantes do parasita: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos. Os taquizoítos e bradizoítos encontram-se nos tecidos dos HI e HD infetados enquanto os esporozoítos estão presentes nos oócistos excretados pelos HD. Os taquizoítos dividem-se rapidamente nas células podendo infetar vários tipos celulares, incluindo as células nervosas, miócitos, hepatócitos, trofoblastos placentários, entre outros. Já os bradizoítos representam formas de multiplicação lenta do parasita e encontram-se no interior dos quistos tecidulares (Dubey *et al.*, 2006).

Tanto a transmissão vertical como a transmissão horizontal são importantes para a perpetuação da infecção e sobrevivência do parasita, como evidenciado na figura 18

(Dubey *et al.*, 2006). A transmissão horizontal é necessária para a introdução e manutenção da infecção na exploração (Dubey, 1999; Dubey *et al.*, 2006). Nesta, os HD infectados eliminam oócitos não esporulados nas fezes. Estes, após a esporulação, contêm 2 esporocistos contendo 4 esporozoítos cada, tendo os esporozoítos capacidade infectante para os HI que se infectam por ingestão dos mesmos. Consequentemente originam-se quistos tecidulares nos HI, tendo a sua capacidade infectante para os HD sido já demonstrada, sobretudo no caso da placenta de HI infectados (Dubey *et al.*, 2006; Gay, 2006; Cabell, 2007).

A infecção pode também propagar-se por transmissão vertical nos bovinos, quer pela ingestão de esporozoítos pela fêmea gestante (infecção transplacentária exógena), quer pelo recrudesimento da infecção durante a gestação (infecção transplacentária endógena) (Dubey *et al.*, 2006; Abbit & Rae, 2007). Desta forma, a transmissão horizontal pelo hospedeiro definitivo, combinada com a propagação vertical dos hospedeiros intermediários infectados explica a elevada prevalência e distribuição mundial do aborto por *Neospora caninum* (Abbit & Rae, 2007).

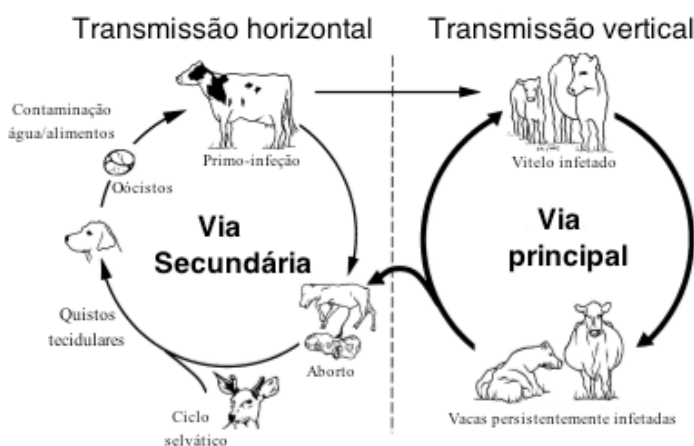


Figura 18: Transmissão de *N. caninum* na espécie bovina (adaptado de Dubey *et al.*, 2006).

3.2.2.2.1.3) Patogénese do aborto

A relação hospedeiro-parasita em bovinos infectados com *Neospora caninum* é uma interação dinâmica entre a resposta imune materna, a resposta imune fetal e o parasita, com a interação entre os três a sofrer alterações ao longo da gestação. A neosporose bovina é principalmente uma doença do feto e placenta que se inicia em consequência

da parasitemia materna desencadeada durante a gestação, quer numa infecção primária, quer no recrudesimento de uma infecção persistente, e favorecida pela imunomodulação característica desta fase e que permite a reativação dos quistos tecidulares com libertação de bradizoítos (Innes *et al.*, 2005; Dubey *et al.*, 2006). A placenta desempenha um papel fundamental na patogenia da neosporose bovina e a resposta imunitária do hospedeiro na interface materno-fetal pode explicar porque algumas vacas abortam em resultado da infecção (Innes *et al.*, 2005).

As circunstâncias em que a parasitemia é desencadeada na fêmea bem como o estágio da gestação em que o feto é infetado parecem ser eventos cruciais na determinação da sobrevivência do feto, consoante o grau de desenvolvimento do seu sistema imunitário e a sua capacidade de responder à infecção (Maley *et al.*, 2003).

Para que ocorra aborto é necessário que o feto ou a placenta apresentem lesões que impeçam a sua viabilidade. A lesão placentária provocada pelo parasita pode pôr em risco a sobrevivência do feto diretamente ou provocar a libertação de prostaglandinas, com consequente luteólise e aborto. Já a lesão fetal pode ocorrer quer pelo dano tecidular provocado pela multiplicação de *N. caninum* no feto, quer por insuficiente nutrição e/ou oxigenação, secundárias às lesões placentárias (Dubey *et al.*, 2006). Além destes, também a resposta imunitária materna pode ser prejudicial ao feto. A fêmea, ao desencadear uma resposta imunitária para combater a infecção, origina uma mobilização dos linfócitos T *helper*-1 (Th-1) e libertação de citocinas pró-inflamatórias prejudiciais à gestação, como é o caso de interferão- γ (IFN γ), da interleucina-dois (IL-2) e do fator de necrose tumoral- α (TNF- α), geralmente ausentes ou presentes em baixas concentrações na placenta, mas cujos títulos se elevam em resposta à infecção por *N. caninum*. Quando a resposta imunitária é desencadeada mais tarde na gestação envolve os linfócitos T *helper*-2 (Th-2). Esta não é prejudicial ao feto mas é menos eficaz no combate à infecção, favorecendo assim a transmissão vertical do parasita (Maley *et al.*, 2003; Innes *et al.*, 2005).

3.2.2.2.1.4) Lesões

Este protozoário é capaz de produzir em poucos dias lesões necróticas microscopicamente visíveis, e provocar morte celular através da multiplicação ativa dos taquizoítos. Desta forma, origina afeções musculares severas nas espécies bovina e canina, e provavelmente também noutros hospedeiros, devido à destruição de células

neurais, incluindo as células dos nervos cranianos e espinais, e afetando a condução dos impulsos nervosos nessas células (Dubey & Lindsay, 1996).

3.2.2.2.1.5) Diagnóstico

O diagnóstico baseia-se na demonstração de taquizoítos de *N. caninum* e exclusão de outras causas de aborto. As amostras de eleição para o seu diagnóstico são o feto inteiro e membranas fetais ou amostras de cérebro, coração e fígado, bem como fluidos corporais ou soro. Se a análise dos fluidos ou tecidos fetais é positiva por serologia ou PCR, o aborto pode estar associado a *N. caninum*.

O diagnóstico pode ser realizado por técnicas de 1) histopatologia, na qual se devem submeter para análise os órgãos fetais mais frequentemente afetados, isto é, o sistema nervoso central, fígado e coração, e membranas fetais que apresentam lesões geralmente confinadas aos cotilédones e presença de taquizoítos nos trofoblastos; 2) serologia fetal, já que a serologia da progenitora apenas indica exposição ao agente, e a placenta sindesmocorial dos ruminantes não permite a passagem de imunoglobulinas da mãe para o feto, pelo que o título de anticorpos no feto e pré colostrais no neonato indicam infecção *in útero*; 3) PCR, com submissão de amostras do feto e membranas fetais, sendo considerado um método altamente específico e sensível para detecção da infecção (Dubey, 1999; Pereira-Bueno *et al.*, 2003; Dubey & Schares, 2006; Abbit & Rae, 2007).

3.2.2.3) Aborto Micótico

Vários fungos e leveduras têm sido implicados em casos de aborto bovino. A maioria destes agentes são fungos saprófitas, característicos de ambientes húmidos como o solo, feno e silagem de má qualidade (Walker, 2007).

O fungo mais comumente isolado no hemisfério norte é *Aspergillus fumigatus*, sendo responsável por cerca de 60-80% dos abortos micóticos, enquanto no hemisfério sul a *Mortierella wolfii* é o agente micótico mais comum (Walker, 2007; Givens & Marley, 2008).

Outras espécies pertencentes ao género *Aspergillus* incluem *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus*, e *Aspergillus nidulans* mas são encontradas menos frequentemente. Os zigomiceta representam o segundo grupo mais frequentemente isolado, onde se incluem as espécies *Absidia corymbifera*, *Absidia ramosa*, *Mortierella wolfii*,

Rhizomucor pusillus e *Rhizopus arrhizus*. Também foram descritas espécies do gênero *Penicillium*, bem como as espécies *Curvularia geniculata*, *Exophiala jeanselmei*, e *Wangiella dermatitidis*; quanto a leveduras, geralmente pertencem ao gênero *Candida* ou *Torulopsis*. A frequência relativa com que os diferentes fungos ocorrem depende da região geográfica em causa (Walker, 2007).

A incidência dos abortos provocados por agentes micóticos varia entre 2-20%, ocorrendo geralmente de forma esporádica sendo que a idade da vaca não representa um fator predisponente. Quanto à sazonalidade, os abortos ocorrem mais frequentemente entre dezembro e março no hemisfério Norte, o que sugere uma associação entre as condições ambientais e a ocorrência de aborto (Cabell, 2007; Walker, 2007).

Geralmente os abortos ocorrem no final da gestação, mais frequentemente entre os seis e os oito meses, embora possam ocorrer a partir dos dois meses. Geralmente não existem sinais prodrômicos. O feto é rapidamente expelido no caso de infecção por *Aspergillus* spp.; contudo, no caso de infecção por zigomicetos, pode ser retido por cerca de 24h. Geralmente ocorre retenção das membranas fetais, estando as mesmas firmemente aderentes.

Em cerca de 25% das fêmeas bovinas com aborto associado a *M. wolfii* ocorre uma pneumonia fulminante pós-aborto, com morte cerca de 72h após o início dos sinais clínicos (Walker, 2007; Givens & Marley, 2008).

3.2.2.3.1) Patogénese

A porta de entrada dos agentes é desconhecida. Contudo, os tratos respiratório e gastrointestinal representam as vias mais prováveis (Givens & Marley, 2008). A placentite, ocorre na sequência de septicémia resultante da ingestão ou inalação de esporos fúngicos (Caldow & Gray, 2004). Embora a maioria dos conídios fúngicos que atingem o trato respiratório inferior permaneçam lá ou sejam eliminados, é discutido que alguns possam entrar na corrente sanguínea através dos septos alveolares, atingindo assim a placenta através da circulação sanguínea sistémica. As infecções ruminais, úlceras omasais e lesões intestinais podem também ser fatores predisponentes à disseminação hematogena para o útero gestante, possivelmente pela penetração através das membranas mucosas. Uma vez estabelecida nos placentomas, a infecção dissemina-se do foco inicial e expande-se lateralmente atingindo depois o espaço intercotiledonar. Em cerca de 25% das infecções fúngicas o agente invade o feto, com envolvimento da

pele e pulmão e, ocasionalmente, o encéfalo ou o fígado (Kirkbride, 1976; Walker, 2007).

Pensa-se que a pneumonia que ocorre após o aborto associado a *M. wolffii* seja devida ao ciclo pulmão-útero-pulmão. Embora o local de entrada inicial seja desconhecido, os esporos entram, provavelmente, pelo trato digestivo, atingem a vasculatura pulmonar através dos sistemas venoso ou linfático, com subsequente localização nas carúnculas placentárias. Após o aborto, um grande número de elementos fúngicos são absorvidos pelo útero, provocando uma pneumonia embólica aguda e fulminante, que ocorre geralmente dois a quatro dias após o aborto.

3.2.2.3.2) Diagnóstico

As membranas fetais são a amostra de eleição. Se possível, a totalidade das mesmas deve ser submetida a análise laboratorial, dado que a infecção pode estar restrita apenas a uma região da mesma. O feto ou tecidos fetais como pele, pulmão e conteúdo abomasal, também são úteis como ferramenta de diagnóstico. Como o feto nem sempre está infectado, a análise apenas do feto ou de tecidos do mesmo pode originar falsos negativos. Nas infecções por *M. wolffii* o fígado e cérebro são os tecidos mais comumente envolvidos (Walker, 2007).

As lesões macroscópicas embora bem distinguíveis, são semelhantes às que ocorrem no aborto por campilobacteriose e brucelose e caracterizam-se por placentite severa com necrose dos cotilédones e espessamento do espaço intercotiledonar (Kirkbride, 1976; Walker, 2007).

Em cerca de 25% dos casos a pele do feto possui lesões de aparência elevada, em placas circunscritas, com tendência a coalescer. As áreas mais frequentemente envolvidas são a região periocular, cabeça, ombros, dorso e costados. As lesões podem ser secas e enrugadas em infecções por *Aspergillus* spp. ou de aparência húmida quando o agente envolvido é um Zigomiceto. O feto pode apresentar-se emaciado e desidratado, tendo toda a superfície cutânea de aparência enrugada (Kirkbride, 1976; Walker, 2007).

Ao exame microscópico direto, são avaliadas raspagens de membranas fetais, de áreas da pele fetal com lesões e também do conteúdo abomasal quanto à presença de hifas fúngicas, após digestão da amostra com solução de hidróxido de potássio a 10%. Com esta digestão, a maioria das substâncias orgânicas são eliminadas da amostra, mas as hifas não são afetadas sendo prontamente visualizadas ao microscópio. A detecção de

hifas juntamente com lesões macroscópicas compatíveis, fornece um diagnóstico presuntivo de aborto com origem micótica (Walker, 2007).

Quanto à identificação do agente em causa, pode ser realizada pela observação das hifas sendo que o género *Aspergillus* possui hifas com 3 a 6 µm de diâmetro, lados paralelos, septação frequente e ramificam-se num padrão dicotómico. As hifas de *P. boydii* são semelhantes às de *Aspergillus*, mas com padrão de ramificação mais irregular. As hifas dos Zygomyceta são largas (5 a 20 µm), de parede fina, e pleomórficas. Tendem a ramificar-se irregularmente, por vezes em ângulos retos e não são septadas, embora possam ser detetados septos ocasionalmente. Não é possível distinguir entre géneros dentro dos Zygomyceta com base nas hifas ou em cortes histológicos.

3.2.2.4) Aborto viral

3.2.2.4.1) Vírus da diarreia viral bovina (BVDV)

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV), é um dos principais agentes patogénicos com importância económica a nível mundial, com a incidência da infeção a superar os 70% (Fray, *et al.*, 2000). O BVDV é um membro do género *Pestivirus* pertencente à família Flaviviridae, e os seus hospedeiros incluem ruminantes (domésticos e silvestres), e suínos. Foi a partir da segunda metade do século XX que o agente foi reconhecido como causa significativa de doença do trato gastrointestinal sendo que a sua importância a nível reprodutivo só foi percebida 30 anos mais tarde (Kelling, 2007). Atualmente, as perdas reprodutivas aparentam ser as consequências mais importantes, do ponto de vista económico, associadas à infeção com BVDV (Cabell, 2007) e podem variar desde uma insidiosa diminuição da eficiência reprodutiva da exploração, até graves surtos de abortos (Grooms, 2006). Além da diminuição da *performance* reprodutiva, o BVDV utiliza o sistema reprodutivo não só para manter, mas também para disseminar a infeção na população bovina, ao induzir a imunotolerância que segue a infeção fetal e que culmina com o nascimento de vitelos persistentemente infetados (PI's), sendo estes a maior fonte de disseminação viral dentro da exploração e entre explorações (Grooms, 2006).

A transmissão viral ocorre quer por via transplacentária (vertical), quer por inalação ou ingestão de material contaminado com secreções ou excreções corporais (saliva,

corrimento ocular /nasal, urina, fezes, sémen, secreções uterinas, placenta e líquido amniótico) de animais infetados (Kelling, 2007; Givens & Marley, 2008).

Existem dois biótipos virais (grupos de vírus com a mesma composição genética) – citopático e não citopático – tendo cada um deles um papel biológico e patogenia distintas (Gard *et al.*, 2007; Kelling, 2007). A classificação do vírus quanto ao seu biótipo baseia-se na sua capacidade em induzir alterações microscópicas visíveis nas células do hospedeiro (vacuolização e lise celular). Ambos os biótipos virais infetam e provocam doença nos bovinos, mas apenas o biótipo não citopático é suscetível de provocar infecção persistente (Kelling, 2007).

3.2.2.4.1.1) Formas clínicas da infecção com BVDV

A forma clínica da infecção por BVDV – diarreia viral bovina (BVD), afeções reprodutivas, infecção persistente, ou doença das mucosas – observada numa exploração está dependente da interação de vários fatores no momento da infecção. Estes fatores incluem as propriedades biológicas do vírus, o tempo de gestação com que a fêmea é infetada, o grau de imunidade da exploração, e a interação entre agentes de *stress* (Kelling, 2007).

O BVDV entra no hospedeiro suscetível principalmente através da via oronasal, e replica-se nas tonsilas, tecidos linfoides e epitélio da nasofaringe. As células fagocitárias transportam o vírus e/ou as células por ele infetadas para os tecidos linfoides. A virémia é evidente dois a quatro dias após a exposição (Kelling, 2007).

Quando a infecção com BVDV ocorre após o nascimento em bovinos seronegativos e imunocompetentes, observa-se a forma aguda da infecção (BVD). Os sinais clínicos incluem geralmente pirécia, corrimento nasal e leucopénia transitória, embora na maioria dos casos as infecções sejam inaparentes. Podem ser observados outros sinais clínicos como trombocitopénia marcada, hemorragias conduzindo a elevadas taxas de mortalidade em infecções com BVDV de elevada virulência. A virémia tem duração de três a dez dias (podendo ser mais longa quando o agente apresenta maior virulência) e os títulos de anticorpos elevam-se lentamente durante os três meses seguintes à infecção. A forma aguda da infecção contribui para o desenvolvimento de outras doenças através da imunossupressão mediada pela supressão das funções imunes devido ao linfotropismo do BVDV, que resulta na depleção de linfócitos dos tecidos linfoides. A

imunossupressão por BVDV potencia a severidade de afeções como a enterite por rotavírus, além de predispor ao desenvolvimento de doenças do complexo respiratório. Quando uma fêmea bovina gestante, não exposta anteriormente ao agente, é infectada com BVDV, geralmente ocorre infecção transplacentária. Esta, pode originar problemas que variam desde morte embrionária e aborto, a defeitos congénitos ou ainda ao desenvolvimento de imunotolerância com estabelecimento de infecções persistentes (Givens, 2006; Ståhl *et al.*, 2006; Anderson, 2007; Kelling, 2007). O resultado da infecção transplacentária do feto está dependente do momento da infecção, da imunocompetência do feto em desenvolvimento, do biótipo viral envolvido, e da virulência do vírus (Grooms, 2006). Na figura 19 evidenciam-se os possíveis resultados da infecção fetal consoante o momento da gestação em que esta ocorre.

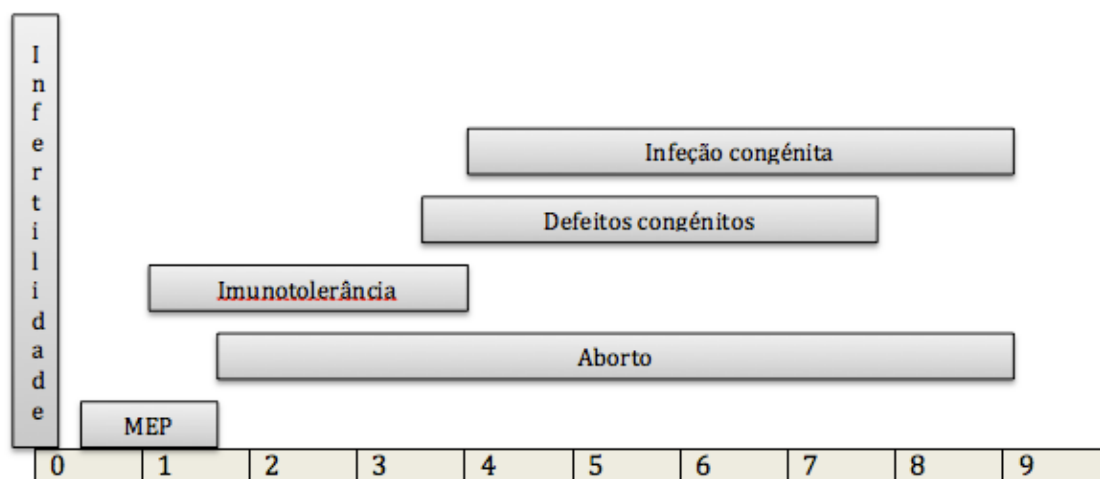


Figura 19: Possíveis consequências reprodutivas da infecção com BVDV, consoante a idade gestacional em que ocorre. MEP: Morte embrionária (adaptado de Grooms, 2006).

As infecções transplacentárias são particularmente nefastas nos dois primeiros trimestres de gestação e podem resultar em infecções persistentes, morte fetal e aborto, ou anomalias congénitas (Kelling, 2007).

Quando a infecção ocorre entre os dias 18 e 125 de gestação, com o biótipo não citopático e que não afeta o desenvolvimento e maturação fetal e antes que a imunocompetência do feto esteja estabelecida (o que ocorre entre os dias 125 e 150 de gestação) (Brock, 2003; Grooms, 2006; Kelling, 2007), este irá desenvolver imunotolerância ao agente e consequentemente tornar-se num PI. Nesta altura, as proteínas virais são reconhecidas como antigénios próprios, resultando na seleção de linfócitos B e T imunotolerantes ao vírus, com consequente ausência de anticorpos

neutralizantes ou presença de anticorpos não neutralizantes (Grooms, 2006). Os vitelos PI's são portadores pois são virémicos e eliminam vírus continuamente, disseminando o agente. Além disso, os PI's apresentam geralmente baixas taxas de crescimento com a morte a ocorrer em idades jovens. Outra importante característica é o facto de fêmeas PI originarem sempre descendência também PI (Kelling, 2007).

Quando a infeção ocorre entre os 100-150 dias de gestação, o seu resultado é geralmente o aparecimento de defeitos congénitos. O mecanismo pelo qual o desenvolvimento dos defeitos ocorre é desconhecido. Dado que os órgãos fetais e o sistema imunitário estão a terminar o seu desenvolvimento nesta fase, a lesão celular direta provocada pela infeção viral e a destruição das células infetadas são os mecanismos possíveis (Grooms, 2006; Kelling, 2007).

Quando a infeção ocorre no último trimestre de gestação, o sistema imunitário do feto está já desenvolvido para responder eficazmente à infeção por BVDV. Assim, as infeções transplacentárias que ocorrem nesta fase da gestação não estão associadas com um nível significativo de defeitos congénitos. Têm sido descritos abortos no final da gestação devido à infeção por BVDV, embora o mais comum seja o nascimento de vitelos clinicamente normais mas com altos níveis de anticorpos preclostrais dada a sua capacidade em desenvolver uma resposta imunitária e eliminar o vírus com eficácia (Grooms, 2006; Kelling, 2007).

3.2.2.4.1.2) Diagnóstico

O BVDV nos fetos abortados é muitas vezes sub-diagnosticado por duas razões: 1) o próprio aborto pode não ser detetado ou não são submetidas para análise as amostras apropriadas, ou 2) quando as amostras adequadas são submetidas, a causa permanece muitas vezes por diagnosticar tendo sido documentada a ocorrência de falsos negativos devido a autólise e citotoxicidade da cultura celular por parte da amostra em causa (Graham *et al.*, 2009). Além disso, o diagnóstico de aborto por BVDV é particularmente problemático já que este pode ocorrer várias semanas após a infeção aguda, pelo que a colheita de amostras do feto abortado pode não ser útil (Saliki & Dubovi, 2004).

Nos fetos abortados, dado que a infeção fetal pode não resultar em aborto, a presença de vírus, antígenos virais ou anticorpos anti-BVDV não confirmam que o vírus seja a causa de aborto (Kelling, 2007).

Os métodos complementares de diagnóstico disponíveis, para detecção da exposição ao agente são o isolamento viral, a detecção de antígenos (testes de ELISA e imunohistoquímica), e a reação em cadeia da polimerase, com transcrição reversa (RT-PCR) e serologia, devendo ser submetidas ao laboratório amostras de órgãos linfóides do feto (baço, placas de *Peyer* de intestino delgado, nódulos linfáticos mesentéricos, timo) assim como soro fetal para determinação de anticorpos (Saliki & Dubovi, 2004). No entanto, embora todos eles possam ser aplicados, segundo Graham *et al.* (2009) os testes de ELISA-antígeno e RT-PCR apresentam resultados superiores aos testes de imunofluorescência indireta, isolamento viral e serologia.

O diagnóstico do BVDV como causa de aborto baseia-se na evidencia da infecção do feto, juntamente com a confirmação de lesões microscópicas compatíveis (reação inflamatória necrosante com infiltração de células mononucleares em vários tecidos). A identificação do vírus no feto, na ausência de lesões, fornece informação em relação à ocorrência da infecção na exploração, mas não esclarece definitivamente a causa de aborto (Kelling, 2007).

3.2.2.4.2) Herpesvírus bovino tipo-1 (BHV-1)

O herpesvírus bovino tipo-1 (BHV-1) pertence à família Herpesviridae e é mais comumente conhecido como o agente causal da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR). É um agente patogénico que infeta os tratos respiratório e reprodutivo e também o feto, representando uma potencial causa de aborto em bovinos (Kelling, 2007; Crook *et al.*, 2012).

O BHV-1 infeta o trato respiratório superior provocando rinite, conjuntivite e traqueíte, e pode também contribuir para o estabelecimento de broncopneumonia bacteriana, quer através da imunossupressão, como pela diminuição dos mecanismos de eliminação pulmonares. Já as infecções genitais podem resultar no desenvolvimento de vulvovaginite pustular nas fêmeas ou balanopostite nos machos. Estas caracterizam-se pela formação de pequenos nódulos, vesículas, erosões focais, ou úlceras visíveis nas membranas inflamadas; ocorrem transitoriamente e resolvem-se espontaneamente em uma a duas semanas (Kelling, 2007).

Além de provocar uma grande diversidade de entidades clínicas, pode também estabelecer infecções latentes nos gânglios trigémio e sagrado, permanecendo o animal num estado de portador que se prolonga por toda a vida do mesmo (Givens, 2006;

Kelling, 2007). Estas infecções latentes reativam-se sob algumas circunstâncias, como situações de *stress* ou tratamento com corticosteroides, sendo que os bovinos que recuperam da infecção, representam uma fonte para futuras infecções de animais não expostos (Kelling, 2007).

A transmissão ocorre através do contato direto com as secreções das membranas mucosas do trato respiratório superior, mucosa conjuntival ou genital. Os animais infetados excretam o vírus nas secreções e membranas mucosas do trato respiratório superior ou genital, por cerca de oito a 16 dias após a exposição ou reativação, e os fetos abortados representam também uma fonte de infecção. Quanto às infecções venéreas, o coito bem como o uso de sémen e equipamentos de inseminação artificial contaminados, são os principais meios de transmissão (Kelling, 2007).

Quando ocorre infecção do trato respiratório com BHV-1 em fêmeas gestantes não previamente expostas e não imunizadas, as consequências mais prováveis são a virémia e subsequente infecção fetal e aborto (Kelling, 2007). O BHV-1 é transportado pelos leucócitos sanguíneos até aos vasos placentários, e o atraso temporal entre a infecção materna e fetal (17-85 dias) pode ser explicado pela lenta disseminação viral entre as células dos placentomas (Smith, 1997; Givens, 2006). O modo de transmissão da placenta para o feto não é conhecido, mas dado que as lesões fetais são predominantemente hepáticas, pensa-se que ocorra por via hematogena, através da veia umbilical (Smith, 1997). A infecção fetal culmina com a morte do feto em 24-48h, resultado de lesões viscerais severas, cessação gradual da circulação placentária e degeneração placentária generalizada (Smith, 1997; Kelling, 2007). O aborto pode ocorrer em qualquer estágio da gestação, sendo mais comuns entre os quatro e oito meses de gestação. As fêmeas podem ou não exibir sinais clínicos que, quando presentes, manifestam-se como doença respiratória ou conjuntivite e ocorrem várias semanas antes do aborto (Kelling, 2007).

Os abortos podem também ocorrer após imunização de fêmeas bovinas gestantes com vacinas vivas atenuadas de BHV-1 (Kelling, 2007).

3.2.2.4.2.1) Diagnóstico

Como já foi referido anteriormente, a infecção fetal resulta em morte rápida do feto (24-48h), mas a sua expulsão ocorre até 7 dias depois com grau de autólise variável, que

pode mascarar as lesões macroscópicas (pequenos focos de cor branca na superfície do fígado e pulmão e por vezes edema das membranas fetais) (Kelling, 2007).

O sucesso e aplicabilidade dos testes de diagnóstico podem estar limitados pela disponibilidade da amostra, assim como pelo seu comprometimento pela autólise. Além disso, pode existir contaminação bacteriana secundária levando ao diagnóstico incorreto de um agente bacteriano como causa de aborto, pelo que pode ocorrer algum grau de sub-diagnóstico de BHV-1 como causa de aborto (Crook *et al.*, 2012).

O diagnóstico de aborto por BHV-1 pode ser confirmado por testes de imunohistoquímica e exame histopatológico dos tecidos fetais (onde se observam inclusões intranucleares do herpesvirus) ou por detecção do antígeno viral, isolamento viral ou PCR (Kelling, 2007). Crook *et al.* (2012), ao comparar os resultados obtidos por PCR em tempo real com a análise histopatológica, técnicas de imunohistoquímica e isolamento viral, demonstraram vantagem para a primeira técnica (PCR em tempo real) apresentando esta boa correlação com os testes de imunohistoquímica. Enquanto a detecção do vírus no feto não significa necessariamente que o vírus é o agente abortivo, a capacidade de quantificar a carga viral fornecida pelo PCR em tempo real pode conferir alguma relevância a esta evidência (Crook *et al.*, 2012).

Já a detecção de anticorpos em amostras emparelhadas maternas tem pouco valor diagnóstico, já que a maioria dos abortos ocorre várias semanas após a infecção da fêmea, pelo que o aumento dos títulos de anticorpos ocorreu antes do aborto, sendo que podem até apresentar uma diminuição após o aborto. Os anticorpos maternos apenas indicam exposição ao agente, mas sem a demonstração de aumento do título, não é possível confirmar que a infecção por BHV-1 é a causa do aborto (Givens, 2006; Kelling, 2007).

4) Caso clínico:

Aborto: abordagem numa exploração

Motivo da consulta: relato de abortos na exploração

4.1) Caracterização da exploração

- Efetivo: 120 bovinos de aptidão cárnica; genótipo Limousine x Alentejano.
 - Maneio geral: Os animais são explorados em sistema extensivo. A alimentação é baseada em pastagem natural e suplementação com palha e feno em períodos de carência. A exploração é fechada, com compra apenas de machos reprodutores, existindo três touros de raça Limousine na exploração tendo o último sido adquirido em setembro de 2010. Os touros apresentam três, quatro e seis anos de idade.
 - Maneio sanitário: no que concerne as doenças de declaração obrigatória a exploração é classificada como B4, T3, L4, sendo indemne para peripneumonia contagiosa bovina (PPCB) (Decreto-Lei nº 244/2000 de 27 de setembro; Decreto-Lei nº 272/2000 de 8 de novembro; Decreto-Lei nº 114/1999 de 14 de abril). No âmbito da profilaxia médica facultativa os animais são vacinados para as toxinas produzidas por *Clostridium perfringens* (tipo A, B, C e D), *Clostridium novyi*, *Clostridium septicum*, *Clostridium tetani*, *Clostridium sordelli* e *Clostridium chauvoei* através da administração anual de Multivac 9[®], e ainda para IBRV, BVDV, PI-3, BRSV, *Leptospira interrogans* serovariedade Canicola, *Leptospira interrogans e borgpetersenii* serovariedade Hardjo, *Leptospira kirschnerii* serovariedade Grippotyphosa, *Leptospira interrogans* serovariedade Pomona e *Leptospira interrogans* serovariedade Icterohaemorrhagiae através da administração anual de Triangle 9[®].
 - Maneio reprodutivo: reprodução em sistema contínuo ao longo do ano, sem época reprodutiva definida. Permanecem dois touros no grupo em reprodução sendo que um terceiro é mantido em separado. Este, permanece fora do grupo em reprodução (repouso sexual), sendo alimentado com feno e ração. O repouso sexual dos touros é efetuado em regime rotativo, sem período de tempo pré-definido.
- Não é efetuado qualquer controlo reprodutivo e a taxa de fertilidade da exploração é de 80% com um intervalo entre partos médio (IEPmédio) de 400 dias.

4.2) História pregressa

De janeiro de 2011 a janeiro de 2012, contabilizaram-se sete abortos em cinco animais, tendo dois animais abortado duas vezes durante este período de tempo. Em todos os casos ocorreu retenção de membranas fetais. Os abortos não apresentaram sazonalidade e ocorreram predominantemente no último terço da gestação, havendo relato de fetos com cerca de 5,5-6 meses e outros com cerca de 7-8 meses. As fêmeas têm idade compreendida entre 3,5 e 14 anos.

Entre o dia 20 de janeiro e 2 de março de 2012, registaram-se três abortos em três animais, perfazendo um total de 10 abortos em oito animais.

4.3) Abordagem diagnóstica

Numa primeira abordagem à exploração, foram realizadas análises sorológicas aos cinco animais que haviam sofrido aborto. Destes, foram recolhidas amostras de sangue, em tubos sem anticoagulante. Esta recolha foi efetuada no dia 24 de janeiro de 2012, sendo que as fêmeas abortaram durante o ano de 2011 não havendo informação da data do mesmo para cada fêmea. No soro efetuou-se a pesquisa de anticorpos anti-:

- BVDV p80
- IBRV
- *Leptospira* serovariedade Hardjo;
- *Coxiella burnetti*
- *Neospora caninum*
- *Chlamydomphila abortus* e *Chlamydia psittaci*

No caso de BVDV e IBRV o teste realizado foi ELISA de competição, enquanto que para os outros agentes, foi realizado um teste de ELISA indireto.

No caso dos abortos ocorridos no período de 20 de janeiro a 2 de março de 2012, foi realizado exame clínico da fêmea e recolhidas amostras de membranas fetais e do feto (amostras de fígado, baço, pulmão, rim, conteúdo abomasal) sempre que este foi localizado (apenas num dos três casos). Ao feto recuperado, foi também realizada a sua necrópsia.

As amostras foram enviadas para diagnóstico laboratorial em recipientes estéreis e refrigeradas, tendo sido requerida a pesquisa de BVDV, *Campylobacter fetus*

venerealis, *Chlamydomphila abortus*, *Coxiella burnetti*, *Leptospira* e *Neospora caninum* mediante PCR em tempo real (rtPCR).

4.4) Resultados

Os resultados referentes à sorologia nos 5 animais abortados estão descritos na tabela n.º13.

Tabela 13: Resultado das análises sorológicas efetuadas aos cinco animais abortados (Pos. – Positivo; Neg. – Negativo).

Anticorpos anti-	Vaca 1	Vaca 2	Vaca 3	Vaca 4	Vaca 5
BVDV p80	Pos.	Pos.	Pos.	Neg.	Pos.
IBRV	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.
<i>Coxiella burnetti</i>	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Duv.
<i>Leptospira</i> serovariedade Hardjo	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.
<i>Neospora caninum</i>	Neg.	Neg.	Neg.	Pos.	Pos.
<i>Chlamydia</i>	Neg.	Duv.	Pos.	Pos.	Pos.

Como é possível verificar, quatro animais apresentam anticorpos anti-BVDV p80, todos apresentam anticorpos anti-IBRV e anti-*Leptospira* serovariedade Hardjo, dois animais apresentam anticorpos anti-*Neospora caninum* e três animais apresentam anticorpos anti-*Chlamydia*, tendo-se registado um animal com resultado duvidoso a *Coxiella burnetti* e outro a *Chlamydia*.

No caso dos abortos ocorridos no período de 20 de janeiro a 2 de março, os exames clínicos das fêmeas revelaram-se sem alterações, à exceção da ocorrência de RMF nos três casos.

À necrópsia, o feto localizado não apresentou quaisquer lesões visíveis macroscopicamente, apresentando idade gestacional de aproximadamente sete meses (figura 20).



Figura 20: Feto abortado, com idade gestacional de aproximadamente sete meses.

Os resultados das análises das amostras de membranas fetais realizadas nos três casos de aborto são os apresentados na tabela 14.

Tabela 14: Resultados das análises efetuadas nas amostras de membranas fetais, enviadas para diagnóstico laboratorial.

Identificação	Aborto 1	Aborto 2	Aborto 3
Data	17-Fev12	2-Mar12	22-Mar12
Amostra investigada	Membranas fetais	Membranas fetais	Membranas fetais
Nº de abortos da fêmea	1	1	1
Teste realizado	rtPCR	rtPCR	rtPCR
Agentes pesquisados:	Resultados:		
BVDV	Neg.	Neg.	Neg.
<i>Campylobacter fetus venerealis</i>	Neg.	Neg.	Positivo
<i>Chlamydophila abortus</i>	Positivo	Neg.	-----
<i>Coxiella burnetti</i>	Neg.	Neg.	Neg.
Proteína lipI32* do género <i>Leptospira</i>	Neg.	Neg.	Neg.
<i>Neospora caninum</i>	Positivo	Neg.	Neg.

(*lipI32 é uma proteína de membrana presente em todos os microrganismos patogénicos do género *Leptospira*)

Como é possível verificar na tabela 14, as análises laboratoriais revelaram positividade a *Chlamydophila abortus* e *Neospora caninum* num dos casos (aborto 1) e a *Campylobacter fetus venerealis* noutra (aborto 3). No caso do aborto 2 todos os agentes pesquisados obtiveram um resultado negativo.

4.5) Discussão

Em surtos de abortos nas explorações bovinas, os abortos são geralmente irregulares e um único aborto pode marcar o início de um surto, o que não se torna evidente por um período de tempo variável. Um aborto, pode representar um problema mais amplo na exploração, o que justifica a investigação de todos os abortos ocorridos (Caldow & Gray, 2004). No entanto, do ponto de vista económico, o custo das análises assim como da intervenção médico-veterinária necessária a esta investigação, tornam inviável esta abordagem individual, sendo a investigação realizada apenas quando o problema toma maiores proporções. Após a ocorrência de sete abortos na exploração, foi requerido aconselhamento médico-veterinário. Dada a indisponibilidade de outro tipo de amostras (feto/membranas fetais de animais abortados), foram recolhidas amostras de sangue inteiro e realizadas análises sorológicas. Os resultados destas, dependem de uma resposta do sistema imunitário face ao agente em causa, através da produção de anticorpos. Estes são produzidos após o contato com o agente patogénico, mas não indicam que o mesmo esteja presente aquando da realização da análise laboratorial, representando assim um meio de diagnóstico indireto. Além disso, o sistema imunitário não é estático, pelo que os títulos de anticorpos flutuam ao longo do tempo e o resultado de apenas uma amostra pode não refletir com precisão a existência ou não de uma resposta imunitária do animal frente ao agente.

Com a ocorrência de mais abortos durante o período em estudo, foram também recolhidas amostras do feto (quando disponível) e de membranas fetais, por se tratarem das amostras de eleição aquando da investigação de casos de aborto. Assim, as análises sorológicas visaram a pesquisa de anticorpos anti-: BVDV p80, IBRV, *Campylobacter fetus venerealis*, *Chlamydophila abortus* e *Chlamydia psittaci*, *Coxiella burnetti*, *Leptospira* serovariedade Hardjo e *Neospora caninum*, através de testes de ELISA de competição no caso dos agentes virais, e ELISA indireto no caso dos agentes bacterianos. As análises tecidulares visaram a pesquisa de BVDV, *Campylobacter fetus venerealis*, *Chlamydophila abortus*, *Coxiella burnetti*, *Leptospira* (serovariedades patogénicas) e *Neospora caninum* mediante rtPCR.

A pesquisa de anticorpos anti-*Brucella abortus* não foi realizada devido ao estatuto sanitário da exploração (B4 – oficialmente indemne), tendo o saneamento anual da

mesma sido realizado em novembro de 2011, sendo que neste rastreio não foram identificados animais positivos.

Para a interpretação dos resultados obtidos através das análises sorológicas, importa recordar que:

- 1) as análises sorológicas baseiam-se na resposta do sistema imunitário do animal frente ao agente em causa;
- 2) o sistema imunitário não é estático, ou seja, os títulos de anticorpos variam, podendo por vezes encontrar-se abaixo do limiar de positividade utilizado pelo laboratório;
- 3) um resultado positivo apenas indica exposição ao agente em causa, e não que este seja a causa do problema;
- 4) Os animais encontram-se vacinados com uma vacina que induz a produção de anticorpos frente a IBRV, BVDV, PI-3, BRSV, *Leptospira interrogans* serovariedade Canicola, *Leptospira interrogans e borgpetersenii* serovariedade Hardjo, *Leptospira kirschnerii* serovariedade Grippotyphosa, *Leptospira interrogans* serovariedade Pomona e *Leptospira interrogans* serovariedade Icterohaemorrhagiae (Triangle 9[®]).

Assim, no caso de IBRV e *Leptospira*, tendo sido utilizada uma vacina não marcada, o teste utilizado não permite diferenciar anticorpos pós-vacinais de anticorpos pós-infecção, pelo que, os anticorpos vacinais podem originar falsos positivos. Desta forma, para estes agentes não é possível saber se a seropositividade se deve à vacinação ou à infecção pelo agente.

Já no caso de BVDV, o teste realizado baseia-se na pesquisa de anticorpos contra a proteína p80. Embora o plano vacinal da exploração contemple a vacinação contra este agente, a vacina inativada perde a proteína p80 (sendo por isso uma vacina marcada), não induzindo a produção de anticorpos contra a mesma. Neste caso, o resultado positivo implica o contato com o agente, e a partir deste o desenvolvimento de uma resposta imunitária com produção de anticorpos. Por outro lado, um resultado negativo, não significa a ausência de contato com o agente podendo tratar-se de falsos negativos (no caso de animais PI, infetados com o agente, mas cujo sistema imunitário não produz anticorpos frente ao mesmo).

Como já referido anteriormente, um resultado positivo de uma análise sorológica apenas indica a existência do contato com o agente. Desta forma, quando se tratam de agentes cuja prevalência entre a população bovina é elevada (como é o caso de *Coxiella burnetii* e de agentes do género *Chlamydia*), sem causar prejuízos à mesma, a pesquisa de anticorpos frente a estes agentes tem pouca relevância no âmbito de um plano diagnóstico de abortos. No entanto, no caso particular de *Neospora caninum*, uma vez que um animal uma vez infetado não consegue eliminar a infeção, um resultado sorológico positivo indica que o animal se encontra infetado com o parasita, pelo que a realização de diagnóstico sorológico é extremamente útil quer para o diagnóstico como para o controlo da doença numa exploração. Por outro lado, tal como acontece com os restantes agentes, não é possível inferir acerca do seu papel nos abortos ocorridos.

O PCR representa uma ferramenta diagnóstica importante, indicando a presença de material genético do(s) agente(s) pesquisado(s) numa determinada amostra, representando por isso um meio de diagnóstico direto.

Das três análises realizadas pós-aborto em amostras de membranas fetais, foi identificada a presença de *Chlamydophila abortus* e *Neospora caninum* numa delas e *Campylobacter fetus venerealis* noutra, não tendo sido identificada a presença de nenhum dos agentes pesquisados numa das amostras (aborto 2). No entanto, a constatação da presença do agente, ainda que em amostras de membranas fetais não significa que este seja a causa do mesmo.

Um dos critérios para definir que *Neospora caninum* é a causa de aborto é a presença do agente e extensão das lesões patológicas no tecido cerebral do feto (Pereira-Bueno *et al.*, 2003).

Uma vez que não foi enviado tecido cerebral para avaliação laboratorial, não é possível afirmar que *Neospora caninum* é a causa do aborto ocorrido, mesmo com a deteção de DNA de *N. caninum* nas membranas fetais, dado que existe uma elevada percentagem de infeções congénitas que não resultam em aborto (Dubey *et al.*, 2007).

Quanto a *Chlamydophila abortus*, a sua existência na amostra de membranas fetais enviada para diagnóstico laboratorial, indica que ocorreu infeção placentária (podendo o agente estar implicado no aborto), ou contaminação fecal. Já que o animal apresentava RMF, a amostra recolhida não havia ainda contactado com o exterior, diminuindo-se assim a possibilidade de contaminação fecal. No entanto, a definição de aborto

provocado por *C. abortus*, inclui a presença das características histológicas da placenta, ou seja, placentite purulenta e/ou necrosante, idealmente incluindo vasculite (Blumer *et al.*, 2011). Na ausência desta avaliação histológica, e tal como acontece no caso de *Neospora caninum*, não é possível implicar *C. abortus* como agente etiológico do aborto.

Assim, no caso do aborto 1, embora não seja possível concluir com certeza qual o agente etiológico implicado, verifica-se a existência de uma infecção mista entre *C. abortus* e *N. caninum*, permanecendo por descortinar se algum ou ambos os agentes foram responsáveis pelo aborto.

No caso do aborto 3, foi identificada a presença de *Campylobacter fetus venerealis*. Tal como no caso do aborto 1, a presença do agente infeccioso na amostra de membranas fetais não permite efetuar um diagnóstico definitivo quanto à causa do aborto, mas permite inferir acerca da presença deste agente na exploração. O diagnóstico definitivo poderia ser obtido por isolamento do agente a partir das membranas fetais, pulmão ou conteúdo abomasal do feto, sendo que estes últimos não foram recuperados.

No aborto 2 não foi identificada a presença de qualquer dos agentes pesquisados.

Assim, pelos resultados das análises efetuadas, verifica-se a presença nesta exploração de três agentes infecciosos passíveis de provocar aborto (*Campylobacter fetus venerealis*, *Chlamydophila abortus* e *Neospora caninum*) não sendo no entanto possível afirmar se algum deles é a causa dos abortos, nem qual o impacto da sua existência na exploração.

4.5.1) Abordagens diagnósticas complementares

Uma vez que não se obteve um diagnóstico definitivo quanto à etiologia dos abortos ocorridos, torna-se imperativo proceder à análise dos dados da exploração a fim de determinar frequência relativa dos abortos e delinear medidas terapêuticas e/ou de manejo passíveis de adotar na exploração, com vista à resolução do problema. Dado que não é realizado qualquer controlo reprodutivo na exploração, não foi possível calcular com exatidão a FR dos abortos ocorridos. No entanto, através do valor da taxa de fertilidade de 80% e IEP_{médio} de 400 dias, foi calculada uma FR_{aborto} como é apresentado em seguida:

80% das fêmeas parem em 400 dias

x % parem em 365 dias

$$x = \frac{80 \times 365}{400} = 73\%$$

A taxa de fertilidade anual (365 dias) será de 73%. Assim:

$$120 \times 0,73 = 88 \text{ vacas parem em 365 dias}$$

Portanto a população em risco de abortar serão então as 88 vacas gestantes que efetivamente pariram, e ainda as oito fêmeas que abortaram ou seja:

$$FR_{\text{aborto}} = \frac{8}{88 + 8} = 8,33\%$$

Como é possível verificar, no cálculo dos animais em risco de abortar foi considerado que cada animal esteve em risco de abortar apenas uma vez, ou seja, esteve gestante apenas uma vez. No entanto, tal não é verdade, uma vez que além das duas fêmeas que abortaram duas vezes, podem também ter ocorrido mortes embrionárias, aumentando assim o número de animais em risco. Desta forma, e uma vez que se consideraram as fêmeas como gestantes apenas uma vez, foram retirados do número de abortos os dois abortos que ocorreram em fêmeas com um aborto já contabilizado.

Assim, tem-se uma frequência relativa estimada de abortos na exploração de 8,33%.

Segundo a *Meat and Livestock Commission* (1998) (citado por Caldow *et al.*, 2005), uma exploração para ser rentável deve ter como objetivo o desmame de 94 vitelos por cada 100 vacas postas à cobrição. Para que tal seja possível e na ausência de partos gemelares, é necessário que a taxa de fertilidade da exploração seja de, no mínimo, 94%. A exploração em questão apresenta uma taxa de fertilidade de 80% (IEP_{médio}= 400 dias) o que significa que apenas 73% das fêmeas bovinas da exploração parem em 365 dias. Assim, a taxa de fertilidade da exploração encontra-se consideravelmente abaixo daquilo que é desejável. Face a esta baixa taxa de fertilidade da exploração, à FR

de abortos anteriormente estimada, juntamente com a ausência de um diagnóstico definitivo para os mesmos, foi proposto ao proprietário um plano de intervenção ao nível da gestão reprodutiva da exploração. Este inclui a análise cuidada dos registos da exploração, o estabelecimento de uma (ou mais) época(s) reprodutiva(s) definida(s), a realização de diagnósticos de gestação regulares, a realização de exames andrológicos pré-aquisição e pré-época reprodutiva e, eventualmente, a utilização de tecnologias reprodutivas como a sincronização de cios e/ou a inseminação artificial.

A análise dos registos da exploração permite a identificação de “vacas-problema” auxiliando ainda (após a realização de um exame ginecológico), na tomada de decisão entre tratamento ou refugo no caso de vacas inférteis.

A existência de época(s) reprodutiva(s) definida(s) na exploração permite uma maior rentabilização da mão de obra, melhor gestão dos recursos alimentares e homogeneidade dos lotes de vitelos. Aquela, aliada à realização de diagnósticos de gestação, permite a identificação de baixas taxas de concepção assim como de longos períodos de anestro, representando por isso uma mais-valia para a identificação do problema existente na exploração.

A realização de exames andrológicos reveste-se de extrema importância, já que permite a previsão do potencial reprodutivo e fertilidade do reprodutor avaliado. Indicou-se a sua realização pré-aquisição e 30-60 dias antes do início da época reprodutiva, permitindo este intervalo quer a realização de novo exame em reprodutores com resultados questionáveis, como a sua eliminação e substituição no caso de animais com resultados insatisfatórios (McGowan, 2004).

A aplicação das medidas anteriormente referidas tem como objetivos a obtenção de um maior controlo reprodutivo, possibilitando a identificação do(s) problema(s) na origem da baixa taxa de fertilidade encontrada na exploração e a tomada de decisões que visam maximizar a *performance* reprodutiva da mesma, aumentando assim a sua capacidade produtiva e rentabilidade. Além disso, permitem também avaliar concretamente as perdas decorrentes do problema em questão, avaliando não só os abortos ocorridos no último terço de gestação, mas também a existência de morte embrionária, aborto precoce e suas implicações no intervalo entre partos da exploração.

Além disso, para os agentes identificados através de rtPCR, foram exploradas as medidas passíveis de ser aplicadas à exploração em causa, sendo apresentadas em seguida.

4.6) Medidas de controlo propostas face aos agentes infecciosos identificados na exploração

4.6.1) *Campylobacter fetus venerealis*

As medidas de controlo frente a este agente baseiam-se em quatro pressupostos: 1) a transmissão é venérea, 2) os touros mais velhos tornam-se permanentemente infetados, 3) as fêmeas infetadas tornam-se imunes geralmente três a seis meses após a infeção, e 4) a vacinação quer das fêmeas como dos machos é tanto profilática como curativa (Yaeger & Holler, 2007).

Uma vez que já foi diagnosticada a presença do agente na exploração, o seu controlo baseia-se em identificar e eliminar fontes crónicas de infeção e em prevenir a reinfeção. Os touros representam a principal fonte de infeção crónica. Assim, uma das estratégias que visam o controlo da infeção preconiza a realização de lavagens prepuciais, com o animal mantido em repouso sexual por um período mínimo de 15 dias e realizado antes do início da época reprodutiva, optando-se pelo refugo dos animais positivos, ou pelo seu tratamento no caso de touros de elevado valor genético.

Uma outra estratégia baseia-se na vacinação e repouso sexual dos touros jovens, o que resulta, geralmente, na eliminação do microrganismo num período de poucas semanas a alguns meses. Além disso, a imunização terapêutica pode prolongar a idade de resistência natural à infeção em machos jovens e auxilia na eliminação da infeção em touros até cinco anos de idade. Os touros com idade superior a cinco anos, cronicamente infetados, podem ser tratados. O tratamento consiste na limpeza do pénis e aplicação de um tratamento tópico de neomicina (10g) e eritromicina (4g) em polietilenoglicol (200g) diariamente, por três dias consecutivos. Após o tratamento, o animal é considerado negativo após a realização de três lavagens prepuciais com resultado negativo, realizadas com 15 dias de intervalo e com o animal mantido em repouso sexual (Yaeger & Holler, 2007).

Como já referido, a vacinação pode ser usada tanto para prevenção como para eliminação da doença, e resulta tanto na proteção contra infeções subsequentes como

cura de infecções crônicas em vacas e touros até aos cinco anos de idade. Os animais são inicialmente vacinados duas vezes, com 2-4 semanas de intervalo e pelo menos 30 dias antes do início da época reprodutiva, seguindo-se o reforço anual da vacinação.

Como a doença é de transmissão venérea, uma outra estratégia baseia-se na cessação da monta natural e uso de técnicas de IA por pelo menos duas épocas reprodutivas após a deteção da infeção, utilizando precauções como a adição de antibióticos ao diluidor de sêmen e cuidada higienização dos materiais entre os animais, permite eliminar a infeção da exploração (Yaeger & Holler, 2007).

4.6.2) *Neospora caninum*

O controlo deste agente deve centrar-se na prevenção e controlo da infeção, através do uso de medidas que visem a interrupção da transmissão vertical e horizontal do parasita. Uma vez que a principal via de transmissão deste agente é a vertical, o principal objetivo é a diminuição ou inibição da mesma, através da redução do número de animais seropositivos. Contudo, a redução da transmissão horizontal é também importante e centra-se no controlo dos hospedeiros definitivos (Dubey *et al.*, 2007).

As vacas infetadas devem ser consideradas um reservatório que permite ao parasita disseminar-se por transmissão quer vertical quer horizontal. Desta forma, pode realizar-se a remoção das fêmeas infetadas e/ou da sua descendência da exploração. A estratégia de testagem e refugo inclui as seguintes opções: testar e refugar fêmeas seropositivas, testar e refugar fêmeas seropositivas que abortam, ou testar e excluir a descendência de fêmeas seropositivas da reprodução. A testagem de todos os animais da exploração e exclusão da descendência de fêmeas seropositivas da reprodução fornece a melhor opção do ponto de vista económico, sendo que estas devem ser substituídas com fêmeas seronegativas o que implica a testagem dos animais antes da sua entrada na exploração. No caso de fêmeas de elevado valor genético infetadas, pode ainda realizar-se transferência embrionária destas para recetoras seronegativas.

As medidas de prevenção da transmissão horizontal ideais incluem (Dubey *et al.*, 2007):

- Impedimento do acesso dos hospedeiros definitivos às zonas onde se encontram os bovinos, com especial preocupação com a contaminação do alimento e água pelas fezes dos cães;

- Isolamento dos animais gestantes, próximos do parto, de modo a não permitir o acesso dos cães ou outros potenciais hospedeiros definitivos aos produtos resultantes do parto, potencialmente contaminados;
- Eliminação dos produtos do aborto e parto, a fim de evitar a sua ingestão pelos hospedeiros definitivos;
- Uso de vedações que não permitam a entrada de outros animais, principalmente cães;
- Controlo regular de roedores;

Tratando-se de uma exploração em regime extensivo, muitas das medidas que visam a interrupção da transmissão horizontal não são passíveis de ser aplicadas, já que:

- O impedimento do acesso dos hospedeiros definitivos aos locais onde se encontram os bovinos não é possível, pois não é possível controlar os hospedeiros do ciclo silvestre do parasita;
- O isolamento dos animais gestantes próximo do parto não é viável já que a exploração não tem época reprodutiva definida e não dispõe de infraestruturas que permitam esta separação;
- Os produtos de aborto e parto não são, muitas vezes, localizados;
- As vedações não impedem a entrada de cães ou outros potenciais hospedeiros definitivos.
- O controlo de roedores não é viável.

A vacinação frente a *N. caninum* deve, idealmente, fornecer proteção contra a morte embrionária e fetal, assim como evitar a transmissão vertical. Além disso, deve também permitir diferenciar animais infetados de vacinados, através de análises sorológicas. Existem dados que revelam que algumas fêmeas infetadas desenvolvem um grau de imunidade suficiente contra a ocorrência de aborto e à sua transmissão, indicando que a imunoprofilaxia é possível. Nalguns países está já disponível uma vacina de taquizoítos, inativada (Bovilis[®] Neoguard), embora os estudos revelem “efeitos razoáveis na prevenção do aborto” (Romero *et al.* citado por Dubey *et al.*, 2007) sendo a sua eficácia estimada em 46%.

Quanto ao tratamento, em bovinos é inviável do ponto de vista económico dado que pode apenas ser utilizado preventivamente e mesmo assim, necessita ser de longa duração, com intervalos de segurança inaceitáveis. Segundo Dubey *et al.* (2007),

nenhum quimioterápico se mostrou eficaz e seguro no tratamento da neosporose bovina, sendo que qualquer esforço para tratar os animais deve ser desencorajado.

Assim a estratégia possível de ser aplicada na exploração centra-se no controlo da transmissão vertical. A escolha entre uma abordagem de refugo de todos os animais seropositivos ou da eliminação da descendência destes da reprodução irá depender dos resultados sorológicos realizados. No caso de existir uma elevada prevalência da infeção na exploração, o refugo de todos os seropositivos da exploração não é economicamente viável, optando-se pela eliminação da reprodução apenas da sua descendência. A vacinação, apesar de reduzir as perdas económicas, não é um método aceitável do ponto de vista económico pois a sua eficácia varia bastante de exploração para exploração, correndo o risco dos custos do produto e do serviço médico-veterinário excederem largamente os seus benefícios.

4.6.3) *Chlamydophila abortus*

Quanto a *C. abortus*, têm sido utilizadas vacinas para prevenir o aborto noutras espécies, não estando aprovadas vacinas para a espécie bovina. O uso de vacinas aprovadas para outras espécies pode não ser eficaz devido às diferenças antigénicas entre estirpes. Os agentes da família Chlamydiace são suscetíveis às tetraciclina, sendo estes antibióticos utilizados tanto como prevenção como tratamento noutras espécies. Nos bovinos, dado que o agente não provoca abortos repetidos e dado que não existem sinais prodrómicos na infeção por *Chlamydophila abortus*, estando esta geralmente associada apenas com abortos esporádicos em bovinos, o uso de antibiótico como prevenção não é comum, sendo apenas realizado nos animais co-habitantes de fêmeas que abortam em surtos devido a este agente infeccioso (Yaeger & Holler, 2007).

5) Conclusão

Como já referido anteriormente, o aborto na espécie bovina pode ser provocado quer por causas infecciosas quer por causas não infecciosas. Desta forma o seu diagnóstico é muitas vezes difícil, sendo que apenas se atinge um diagnóstico em cerca de 35% dos casos em que são submetidas amostras para diagnóstico laboratorial (Cabell, 2007). Num mesmo animal podem ainda haver múltiplos agentes envolvidos, tornando-se difícil concluir qual das infeções foi a causa primária do aborto, além de que a sinergia entre as várias infeções pode ser mais perigosa à sobrevivência do feto, do que a existência de apenas uma delas (Corbellini *et al.*, 2006).

Assim, os resultados laboratoriais obtidos a partir das amostras submetidas devem ser interpretadas pelo médico veterinário para determinar se fornecem a resposta adequada ao problema da exploração. Em alguns casos, as amostras podem apresentar contaminação com outros agentes, múltiplas infeções, ou não representar o problema da exploração, pelo que deve ser avaliado se o agente identificado pode ter relevância para o problema da exploração. A falha em identificar uma causa infecciosa pode ocorrer nos casos de aborto de etiologia não infecciosa em que as alterações genéticas, hormonais, metabólicas ou de desenvolvimento são muitas vezes difíceis ou até mesmo impossíveis de confirmar (Anderson *et al.*, 2007), ou pode resultar da deterioração da amostra, não sendo possível identificar nenhum agente.

Além dos fatores de ordem técnica, que tornam difícil a obtenção de um diagnóstico em casos de aborto, devem ainda ser considerados os fatores de ordem financeira, em que os elevados custos com as análises laboratoriais implicadas num plano diagnóstico tornam muitas vezes a sua realização inviável.

Na exploração aqui exposta, torna-se de extrema importância definir, em conjunto com o produtor, quais as medidas de controlo passíveis de serem aplicadas em relação aos agentes identificados. Estas devem basear-se na análise dos custos e benefícios obtidos com a implementação das referidas medidas de controlo. Para tal, é de extrema importância a realização do acompanhamento reprodutivo da exploração, devendo o proprietário tomar consciência dos benefícios do mesmo, quer por permitir uma melhor avaliação do impacto destes problemas na exploração, como para conseguir uma maior rentabilidade da exploração.

6) Bibliografia

- Abbit, B. & Rae, D. O. (2007). Protozoal abortion in cattle. In *Current therapy in large animal theriogenology*. (2nd ed.). R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.). (pp. 409-413). United States of America: Saunders Elsevier.
- Anderson, M. L. (2007). Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. *Theriogenology*, 68, 474-486.
- Anderson, M. L., Andrianarivo, A. G. & Conrad, P. A. (2000). Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science*, 60-61, 417-431.
- Apifarma (2007) *Simposium veterinário*. Apifarma 2007-2008. CESA – Comissão Especializada para a Saúde Animal.
- Ball, P. J. H. & Peters, A. R. (2004). *Reproduction in Cattle* (3rd Ed.). Great Britain: Blackwell Publishing.
- Bazeley, K. (2003). Investigation of diarrhoea in the neonatal calf. *In Practice*, 25, 152-159.
- Blumer, S., Greub, G., Waldvogel, A., Hässig, M., Thoma, R., Tschuor, A., Pospischil, A. & Borel, N. (2011). *Waddlia*, *Parachlamydia* and *Chlamydiaceae* in bovine abortion. *Veterinary Microbiology*, 152, 385-393.
- Bolin, C.A. (2005). Leptospirosis in cattle: Disease review and update. In *Proceedings of the North America Veterinary Conference, Jan. 8-12, 2005, Orlando, Florida*, pp.1-3. Acedido em maio 31, 2012 em: <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2005/LA/001.pdf?LA=1>
- Bracken, F. K. (1955). Bovine leptospiroses in the United States. *Journal of Dairy Science*, 38(7), 821-822.
- Brock, K. V. (2003). The persistence of bovine viral diarrhea virus. *Biologicals*, 31, 133-135.
- Cabell, E. (2007). Bovine abortion: aetiology and investigations. *In Practice*, 29, 455-463.
- Caldow, G. & Gray, D. (2004). Fetal loss. In *Bovine Medicine Diseases and Husbandry of Cattle*. (2nd ed.). A. H. Andrews, R. W. Blowey, H. Boyd & R. G. Eddy (Eds.). (pp. 577-593). *sine loco*: Blackwell Science.
- Caldow, G., Lowman, B. & Riddell, I. (2005). Veterinary intervention in the reproductive management of beef cow herds. *In Practice*, 27, 406-411.

- Canada, N., Carvalheira, J., Meireles, C. S., da Costa, J. M. C. & Rocha, A. (2004). Prevalence of *Neospora caninum* infection in dairy cows and its consequences for reproductive management. *Theriogenology*, 62, 1229-1235.
- Casteel, S. W. (2007). Reproductive Toxicants. In *Current therapy in large animal theriogenology*. (2nd ed.). R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.). (pp. 420-427). United States of America: Saunders Elsevier.
- Cavirani, S., Cabassi, C. S., Donofrio, G., Delaco, B., Taddei, S. & Flammini, C. F. (2001). Association between *Chlamydia psittaci* seropositivity and abortion in Italian dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 50, 145-151.
- Chapwanya, A. (2008). Uterine disease in dairy cows: classification, diagnosis and key roles for veterinarians. *Irish Veterinary Journal*, 61(3), 183-187.
- Christensen, B. W., Drost, M. & Troedsson, M. H. T. (2009). Female Reproductive Disorders: Abortion. In *Large Animal Internal Medicine*. (4th Edition). B. P. Smith (Ed.). (pp. 1451-1469). United States: Mosby Elsevier.
- Cobner, A. (2003). Bovine tuberculosis: clinical update and on-farm advice. *In Practice*, 25, 606-613.
- Conceição, F. R. & Turnes, C. G. (2003). *Moraxella bovis*: influência das características genóticas e fenóticas no controle da Ceratoconjuntivite Infeciosa Bovina, *Ciência Rural*, 33(4), 778-787.
- Corbeil, L. B., Campero, C. M., Van Hoosear, K., BonDurant, R. H. (2008). Detection of trichomonad species in the reproductive tracts of breeding and virgin bulls. *Veterinary Parasitology*, 154, 226-232.
- Corbellini, L. G., Pescador, C. A., Frantz, F., Wunder, E., Steffen, D., Smith, D. R. & Driemeier, D. (2006). Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: Importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted fetuses in Southern Brazil. *The Veterinary Journal*, 172, 114-120.
- Crook, T., Benavides, J., Russell, G., Gilray, J., Maley, M. & Willoughby, K. (2012). *Bovine herpesvirus-1* abortion: current prevalence in the United Kingdom and evidence of hematogenous spread within the fetus in natural cases. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 24, 662-670.
- De Almeida, M. A. O. & Ayres, M. C. C. (2006). Considerações gerais sobre os anti-helmínticos. In *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. (4ª ed.). H. S. Spinosa, S. L. Górnica & M. M. Bernardi (Eds.). (pp. 519-526). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Decreto-Lei n.º 157/98 de 9 de junho. *Diário da República n.º 133/98 – I Série*. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

- Decreto-Lei n.º 114/99 de 14 de abril. *Diário da República* n.º 87/99 – I Série. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

- Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de setembro. *Diário da República* n.º 224/2000 – I Série. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

- Decreto-Lei n.º 272/2000 de 8 de novembro. *Diário da República* n.º 258/2000 – I Série. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

- Dubey, J. P. (1999). Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, 84, 349-367.

- Dubey, J. P. & Lindsay, D. S. (1996). A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, 67, 1-59.

- Dubey, J. P. & Schares, G. (2006). Diagnosis of bovine neosporosis. *Veterinary Parasitology*, 140, 1-34.

- Dubey, J. P., Buxton, D. & Wouda, W. (2006). Pathogenesis of Bovine Neosporosis. *Journal of Comparative Pathology*, 134, 267-289.

- Dubey, J. P., Schares, G. & Ortega-Mora, L. M. (2007). Epidemiology and control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(2), 323-367.

- Edwards, T. A. (2010). Control methods for bovine respiratory disease for feedlot cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 26, 273-284.

- Eiler, H. & Fecteau, K. A. (2007). Retained placenta. In *Current therapy in large animal theriogenology*. (2nd ed.). R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.). (pp. 345-354). United States of America: Saunders Elsevier.

- Fecteau, G., Smith, B. P. & George, L. W. (2009). Septicemia and meningitis in the newborn calf. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25, 195-208.

- Foster, D.M. & Smith, G. W. (2009). Pathophysiology of diarrhea in calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25, 13-36.

- Fray, M. D., Paton, D. J. & Allenius, S. (2000). The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. *Animal Reproduction Science*, 60-61, 615-627.

- Gard, J. A., Givens, M. D. & Stringfellow, D. A. (2007). Bovine viral diarrhoea virus (BVDV): Epidemiologic concerns relative to semen and embryos. *Theriogenology*, 68, 434-442.

- Garry, F. & McConnel, C. (2009). Indigestion in ruminants. In *Large Animal Internal Medicine*. (4th Edition). B. P. Smith (Ed.). (pp. 818-842). United States: Mosby Elsevier.
- Gay, J. M. (2006). Neosporosis in dairy cattle: An update from an epidemiological perspective. *Theriogenology*, 66, 629-632.
- Givens, M. D. (2006). A clinical, evidence-based approach to infectious causes of infertility in beef cattle. *Theriogenology*, 66, 648-654.
- Givens, M. D. & Marley, M. S. D. (2008). Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology*, 70, 270-285.
- Graham, D. A., Beggs, N., Mawhinney, K., Calvert, V., Cunningham, B., Rowan-Layberry, L. & McLaren, I. (2009). Comparative evaluation of diagnostic techniques for bovine viral diarrhoea virus in aborted and stillborn fetuses. *Veterinary Record*, 164, 56-58.
- Grooms, D. L. (2006). Reproductive losses caused by bovine viral diarrhea virus and leptospirosis. *Theriogenology*, 66, 624-628.
- Guard, C. (1999). Retained placenta: causes and treatment. *Advances in Dairy Technology*, 11, 81-86.
- Gunn, A. A., Naylor, J. A. & House, J. K. (2009). Manifestations and Management of Disease in Neonatal Ruminantes: Diarrhea. In *Large Animal Internal Medicine*. (4th Edition). B. P. Smith (Ed.). (pp. 340-363). United States: Mosby Elsevier.
- Hairgrove, T. B. (2004). Leptospirosis in cattle. In *American association of bovine practitioners proceedings, September 2004*, 37, 1-5. Acedido em junho 8, 2012 em: www.4cattlemen.com/ncba2005/Newsroom/PR101ReproHairgrove.doc
- Hanson, L. E. (1975). Bovine leptospiroses. *Journal of Dairy Science*, 59(6), 1166-1170.
- Hatem, M. E., Attia, E. R., Ata, N. S. & Ibranim, E. S. (2008). Leptospirosis in bovine with special reference to mastitis. *American-Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Science*, 3(2), 205-208.
- Hinton, M. (1977). The diagnosis of salmonella abortion in cattle with particular reference to *Salmonella dublin*. A review. *Journal of Hygiene*, 79, 25-38.
- Hoffer, M. A. (1981). Bovine campylobacteriosis: a review. *The Canadian Veterinary Journal*, 22(11), 327-330.

- Hopkins, F. M. (2007). Diseases of the reproductive system of the bull. In *Current therapy in large animal theriogenology*. (2nd ed.). R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.). (pp. 240-243). United States of America: Saunders Elsevier.
- Huxley, J. (2006). Assessment and management of the recumbent cow. *In Practice*, 28, 176-184.
- Innes, E. A., Wright, S., Bartley, P., Maley, S., Macalodowie, C., Esteban-Redondo, I. & Buxton, D. (2005). The host-parasite relationship in bovine neosporosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 108, 29-36.
- Jackson, P. G. G. (2004). *Handbook of veterinary obstetrics*. (2nd ed.). Cambridge: Elsevier.
- Jainudeen, M. R. & Hafez, E. S. E. (2000). Reproductive failure in females. In *Reproduction in farm animals*, (7th ed.). E. S. E. Hafez & B. Hafez. (pp. 261-278), Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Janke, J. J. (2009). Interdigital necrobacillosis (foot rot) in cattle. In *Large Animal Internal Medicine*. (4th Edition). B. P. Smith (Ed.). (pp. 1234-1236). United States: Mosby Elsevier.
- Jimenez, D. F., Perez, A. M., Carpenter, T. E. & Martinez, A. (2011). Factors associated with infection by *Campylobacter fetus* in beef herds in the Province of Buenos Aires, Argentina. *Preventive Veterinary Medicine*, 101, 157-162.
- Kahn, C.M. (Ed.) (2011). The Merck Veterinary Manual. (9th ed.) Whitehouse Station, NJ, USA: Merck Sharp & Dohme Corp. Acedido em 06-06-2012, disponível em <http://www.merckvetmanual.com>
- Kelling, C. L. (2007). Viral diseases of the fetus. In *Current therapy in large animal theriogenology*. (2nd ed.). R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.). (pp. 399-408). United States of America: Saunders Elsevier.
- Kirkbride, C. A. (1976). Mycotic abortion. *Theriogenology*, 5(3), 139-149.
- Lamb, C. (1999). Embryonic mortality in cattle. *Extension Beef Cattle Resource Committee*. Acedido em setembro 6, 2012 em: http://www.iowabeefcenter.org/Beef%20Cattle%20Handbook/Embryonic_Mortality.pdf
- Levett, P. N. (2001). Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(2), 296-326.
- Madureira, E. H. & Pimentel, J. R. V. (2005). IATF como uma ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva. *Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*. Goiânia, Brasil.

- Maley, S. W., Buxton, D., Rae, A. G., Wright, S. E., Schock, A., Bartley, P. M., Esteban-Redondo, I., Swales, C., Hamilton, C. M., Sales, J. & Innes, E. A. (2003). The pathogenesis of neosporosis in pregnant cattle: Inoculation at mid-gestation. *Journal of Comparative Pathology*, 129(2-3), 186-195.
- McDougall, S. (2002). Bovine mastitis: epidemiology, treatment and control. *New Zealand Veterinary Journal*, 50(3), 81-84.
- McGowan, M. (2004). Approach to conducting bull breeding soundness examinations. *In Practice*, 26, 485-491.
- Moraes, J. C. F., Jaume, C. M. & de Souza, C. J. H. (2007). Manejo reprodutivo da vaca de corte. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 31(2), 160-166.
- Panciera, R. J. & Confer, A. W. (2010). Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 26, 191-214.
- Parish, J. A., Larson, J. E. & Vann, R. C. (2011). Estrous synchronization in cattle. *Mississippi State University – Extension Service*, 2614, Acedido em Jun. 21, 2012, disponível em <http://msucares.com/pubs/publications/p2614.pdf>
- Penny, C. (1998). Controlled breeding in cattle. *In Practice*, 20, 351-357.
- Pereira-Bueno, J., Quintanilla-Gozalo, A., Pérez-Pérez, V., Espi-Felgueroso, A., Álvarez-García, G., Collantes- Fernández, E. & Ortega-Mora, L. M. (2003). Evaluation by diferente diagnostic techniques of bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Spain. *Veterinary Parasitology*, 111, 143-152.
- Plenderleith, B. (1986). Prolapse of the uterus in the cow. *In Practice*, 8, 14-15.
- Portaria 178/2007 de 9 de fevereiro. *Diário da República n.º 29/2007 – I Série*. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.
- Poulsen, K. P. & McGuirk, S. M. (2009). Respiratory Disease of the Bovine Neonate. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25, 121-137.
- Pritchard, G. (1990). Diagnosing the cause of bovine abortion. *In Practice*, 12, 92-97.
- Radostitis, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W. & Constable, P. D. (2007a). Diseases associated with bacteria – III. In *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. (10th ed.). O. M. Radostits, C. C. Gay, K. W. Hinchcliff & P. D. Constable. (pp. 847-1006). London: Saunders Elsevier.
- Radostitis, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W. & Constable, P. D. (2007b). Diseases associated with viruses and *Chlamydia* - I. In *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. (10th ed.). O. M. Radostits, C. C. Gay, K. W. Hinchcliff & P. D. Constable. (pp. 1157-1223). London: Saunders Elsevier.

- Radostitis, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W. & Constable, P. D. (2007c). Diseases associated with bacteria – V. In *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. (10th ed.). O. M. Radostits, C. C. Gay, K. W. Hinchcliff & P. D. Constable. (pp. 1061-1157). London: Saunders Elsevier.
- Radostitis, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W. & Constable, P. D. (2007d). Diseases associated with bacteria – I. In *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. (10th ed.). O. M. Radostits, C. C. Gay, K. W. Hinchcliff & P. D. Constable. (pp. 765-821). London: Saunders Elsevier.
- Risco, C. A., Youngquist, R. S. & Shore, M. D. (2007). Postpartum uterine infections. In *Current therapy in large animal theriogenology*. (2nd ed.). R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.). (pp. 339-344). United States of America: Saunders Elsevier.
- Rivera, H. (2001). Causas frecuentes de aborto bovino. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(2), 117-122.
- Rood, K. A. (2011). *Reproduction and immune impacts from vitamin or mineral deficiencies: Determining if your herd is deficient*. Acedido em setembro 6, 2012 em: http://extension.usu.edu/files/publications/publication/AG_AnimalHealth_2011-01pr.pdf
- Saliki, J. T. & Dubovi, E. J. (2004). Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhea vírus infections. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 20, 69-83.
- Samartino, L. E. & Enright, F. M. (1993). Pathogenesis of abortion of bovine brucellosis. *Comparative Immunology Microbiology & Infectious Diseases*, 16(2), 95-101.
- Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S. & Gilbert, R. O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65, 1516-1530.
- Smith, G. W. (2009a). Bovine neonatology: Preface. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25, xi-xii.
- Smith, G. W. (2009b). Treatment of calf diarrhea: Oral fluid therapy. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25, 55-72.
- Smith, K. C. (1997). Herpesviral abortion in domestic animals. *The Veterinary Journal*, 153, 253-268.
- Spitzer, J. C., Hopkins, F. M., Chenoweth, P. J. (1998). New Guidelines for Breeding Soundness Evaluation (BSE) of Bulls. Clemson University. *Cooperative Extension Service*. Acedido em setembro 9, 2012 em: http://www.clemson.edu/extension/livestock/livestock/beef/beef_cattle_db/fact_sheets/bc_2011.html

- Ståhl, K., Björkman, C., Emanuelson, U., Rivera, H., Zelada, A. & Moreno-López, J. (2006). A prospective study of the effect of *Neospora caninum* and BVDV infections on bovine abortions in a dairy herd in Arequipa, Perú. *Preventive Veterinary Medicine*, 75. 177-188.
- Stevenson, J. S. (2007). Clinical Reproductive Physiology of the Cow. In *Current therapy in large animal theriogenology*. (2nd ed.). R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.). (pp. 258-270). United States of America: Saunders Elsevier.
- Tizard, I. R. (2004a). Type IV hypersensitivity: Delayed hypersensitivity. In *Veterinary Immunology: an introduction*. (7th ed.). I. R. Tizard (Ed.). (pp. 343-350). London: Saunders Elsevier.
- Tizard, I. R. (2004b). Vaccines and their production. In *Veterinary Immunology: an introduction*. (7th ed.). I. R. Tizard (Ed.). (pp. 247-260). London: Saunders Elsevier.
- Torremorrell, M. (2007). Bacterial, rickettsial, protozoal and fungal causes of infertility and abortion in swine. In *Current therapy in large animal theriogenology*. (2nd ed.). R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.). (pp. 794-801). United States of America: Saunders Elsevier.
- Walker, R. L. (2007). Mycotic bovine abortion. In *Current therapy in large animal theriogenology*. (2nd ed.). R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.). (pp. 417-419). United States of America: Saunders Elsevier.
- Yaeger, M. J. & Holler, L. D. (2007). Bacterial causes of bovine infertility and abortion. In *Current therapy in large animal theriogenology*. (2nd ed.). R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.). (pp. 389-399). United States of America: Saunders Elsevier.

Anexo 1 – Composição qualitativa e quantitativa de Duphafral Multi® por ml

Vitamina A (palmitato)	15000 UI
Vitamina D3 (coleciferol)	7500 UI
Vitamina E (acetato de α -tocoferol)	20 mg
Vitamina B1 (cloridrato de tiamina)	10 mg
Vitamina B2 (riboflavina como fosfato de sódio)	5 mg
Vitamina B6 (cloridrato de piridoxina)	3 mg
Vitamina B12 (cianocobalamina)	20 mcg
Nicotinamida	35 mg
d-pantenol	25 mg

Fonte: Apifarma, 2007

Anexo 2 – Composição qualitativa e quantitativa de Omasin[®] por cada 200g de produto

Carbonato de cálcio	64,0 g
Hidrogenocarbonato de sódio	46,0 g
Propionato de sódio	46,0 g
Cloridrato de tiamina	0,4 g
<i>Ceratoniae fructus</i> , raiz de genciana e <i>Foeniculi fructus ad pulv.</i> como aromatizantes e melhoradores do paladar. 2-5% de açúcares e vestígios de amido	

Fonte: Apifarma, 2007

Anexo 3 – Composição qualitativa e quantitativa de Bê-complex[®] por ml de solução

Cloridrato de tiamina (vit. B1)	3 mg
Riboflavina-5'-monofosfato de sódio (vit. B2)	2,54 mg
Cloridrato de piridoxina (vit. B6)	3 mg
Nicotinamida (vit. PP)	20 mg
D-Pantenol	5 mg
D-Biotina (vit. H)	0,1 mg
Cianocobalamina (vit. B12)	0,01 mg
Excipiente q. b. p.	1 ml

Fonte: Apifarma, 2007